

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1978 - N° 156

THÈSE

présentée

A l'Université Claude Bernard - Faculté de Pharmacie

et soutenue publiquement le 22 Novembre 1978

pour obtenir le grade de Docteur d'Etat es Sciences Pharmaceutiques

par

CHAMARD Patrick

né le 1^{er} Mai 1946

à LYON (6^e)

Etude bactériologique de l'atmosphère de la région Lyonnaise

JURY :

MM. M. CARRAZ

R. FONTANGES

A. CREMIEUX

R. MALLEIN

M. SEPETJAN

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 2

FACULTÉ DE PHARMACIE

THÈSE

présentée

à Monsieur Claude Bernad - Docteur de Pharmacie

et Monsieur Paul Bouchard - Docteur de Pharmacie

pour obtenir le grade de Docteur en Sciences Pharmaceutiques

par

CHAMARD Patrick

né le 20 Mars 1948

à Lyon (69)

Etude bactériologique de l'atmosphère
de la région Lyonnaise

Directeur

M. G. CHAMARD

M. G. CHAMARD

M. G. CHAMARD

M. G. CHAMARD

UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON I

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1978 - N°

THÈSE

présentée

A l'Université Claude Bernard - Faculté de Pharmacie

et soutenue publiquement le 22 Novembre 1978

pour obtenir le grade de Docteur d'Etat es Sciences Pharmaceutiques

par

CHAMARD Patrick

né le 1^{er} Mai 1946

à LYON (6^e)

Etude bactériologique de l'atmosphère
de la région Lyonnaise

JURY :

MM. M. CARRAZ
R. FONTANGES
A. CREMIEUX
R. MALLEIN
M. SEPETJAN

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD (LYON I)

FACULTE DE PHARMACIE

Année 1951 - 1952

TITRE

Présenté

A l'Université Claude Bernard - Faculté de Pharmacie

et soutenu publiquement le 12 décembre 1951

pour obtenir le grade de Docteur en Sciences Pharmaceutiques

par

CLAUDE BERNARD

né le 10 mai 1925

à



Etude bactériologique de l'atmosphère
de la région lyonnaise

NOTES

Sur le cas de

E. coli

A. coli

E. coli

E. coli

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD

PRESIDENT : M. le Professeur D. GERMAIN

PREMIER VICE-PRESIDENT : M. le Professeur ELBAZ

DEUXIEME VICE-PRESIDENT : M. P. PONCET, Maître-Assistant

TROISIEME VICE-PRESIDENT : M. C. BADOR, Etudiant

SECRETAIRE GENERAL DE L'UNIVERSITE : M. J. RAMBAUD
Administrateur Civil

DIRECTEURS DES U.E.R. et DOYENS DES FACULTES

FACULTE DE MEDECINE GRANGE-BLANCHE : M. Bernard SALLE, M.C.A.

FACULTE DE MEDECINE ALEXIS-CARREL : M. le Professeur René MORNE

U.E.R. DE MEDECINE LYON-NORD : M. Jean-Pierre NEIDHART, M.C.A.

FACULTE DE MEDECINE SUD-OUEST : M. le Professeur Jean NORMAND

FACULTE DE PHARMACIE : M. le Professeur Charles-Albert BIZOLLON

U.E.R. DE TECHNIQUES DE READAPTATION : M. Alain MORGON, M.C.A.

U.E.R. DE BIOLOGIE HUMAINE : M. Jean-Pierre REVILLARD, M.C.A.

U.E.R. I.R.E.P.S. : M. Albert MILLON, Professeur D'E.P.S.

U.E.R. DE SCIENCES ODONTOLOGIQUES : M. le Docteur Roger VINCENT

U.E.R. DE MATHEMATIQUES : M. le Professeur Edmond COMBET

U.E.R. DE PHYSIQUE : M. le Professeur Jean DELMAU

U.E.R. DE CHIMIE-BIOLOGIE : M. le Professeur Jean HUET

U.E.R. DE SCIENCES DE LA NATURE : M. le Professeur René GINET

U.E.R. DE SCIENCES PHYSIOLOGIQUES : Mlle le Professeur J.F. WORBE

U.E.R. DE PHYSIQUE-NUCLEAIRE : M. le Professeur Mark GUSAKOW

I.U.T. N° 1 : M. le Professeur Bernard POUYET

I.U.T. N° 2 : M. J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.

OBSERVATOIRE DE LYON : M. Guy MONNET, Astronome Adjoint

U.E.R. DE MECANIQUE : Mlle le Professeur Geneviève COMTE-BELLOT.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554223_0019

EXAMINATEURS DE LA THESE :

PRESIDENT : Monsieur le Professeur CARRAZ

ASSESSEURS : Monsieur le Médecin en Chef R. FONTANGES
Mademoiselle le Professeur A. CREMIEUX
Monsieur le Professeur R. MALLEIN
Monsieur le Professeur SEPETJAN

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS.

A MON PERE ET A MA MERE.

A MA FEMME. A MES ENFANTS.

A MA FAMILLE.

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur M. CARRAZ

Professeur de Bactériologie à l'U.E.R. des
Sciences Pharmaceutiques de Lyon

Directeur de l'Institut Pasteur de Lyon

*Nous le remercions du grand honneur qu'il
nous fait d'accepter la présidence de ce jury.*

*Qu'il veuille trouver ici l'expression de
notre respectueuse admiration.*

AUX MEMBRES DE NOTRE JURY

Monsieur le Médecin en Chef R. FONTANGES

Maître de recherches du Service de Santé des Armées

Maître de conférences à l'Université Claude Bernard Lyon I

Chef de la division de Microbiologie du Centre de Recherches
du Service de Santé des Armées

*Nous tenons à lui exprimer nos remerciements pour
l'accueil chaleureux qu'il nous réserva dans son laboratoire.
Nous admirons sa lucidité remarquable, son dynamisme et sa
grande rigueur.*

*Il nous a guidé avec efficacité et bienveillance
dans l'élaboration de ce travail.*

*Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de
notre respectueuse considération et de notre profond
attachement.*

Mademoiselle le Professeur A. CREMIEUX

Professeur de Bactériologie à l'U.E.R.
des Sciences Pharmaceutiques de Marseille

*Nous la remercions d'avoir bien voulu
accepter de juger cette thèse et nous lui exprimons
notre respectueuse gratitude.*

Monsieur le Professeur R. MALLEIN

Professeur de Biochimie Analytique et Physiopathologie
à la Faculté de Pharmacie de Lyon

Biologiste des hôpitaux hors C.H.U.

*Au cours de nos semestres d'internat passés dans
son laboratoire de l'Hôpital de l'Antiquaille, nous avons
pu admirer son sens de l'autorité, son jugement, ses qualités
scientifiques et humaines ainsi que l'étendue de ses connais-
sances dans les domaines les plus divers.*

*Nous aimerions qu'il trouve ici l'expression de
notre profonde considération.*

Monsieur le Professeur M. SEPETJAN

Professeur de Médecine Préventive et d'Hygiène
à l'Université Claude Bernard Lyon I

*Il a bien voulu accepter de participer
à notre jury. Nous le prions de trouver ici
nos respectueux remerciements et notre sincère
gratitude.*

Mais nos remerciements et notre gratitude vont aussi :

Au Professeur M. PIECHAUD †

Chef de Service à l'Institut Pasteur de Paris

Nous avons pu bénéficier de son enseignement magistral lors du "Grand Cours" à l'Institut Pasteur de Paris. Nous avons apprécié l'étendue de ses connaissances, son exigence dans le travail et la richesse de ses qualités humaines.

Il a bien voulu accepter de contrôler l'identification de nos souches atmosphériques.

Nous garderons très vif le souvenir de cet éminent bactériologiste.

Au Médecin en Chef P. ISOARD

Maître de Recherches du Service de Santé des Armées

*dont l'aide précieuse nous a permis de mener à bien
ce travail. Son dévouement et ses connaissances nous
ont été très utiles.*

-:-

A Guy LLORCA

*auquel nous lie une solide amitié et qui nous a apporté
son concours efficace.*

-:-

A E. ABRIGEON-CAVOT

Nous lui devons la partie informatique de ce travail.

-:-

Au Personnel du laboratoire de Bactériologie de l'Atmosphère

Pour toute l'aide qu'il nous a apportée.

-:-

P R E M I E R E P A R T I E
- : - : - : - : - : - : - : - : - : - : - : - :

La Bible montre Jérusalem délivrée d'un siège par une épidémie de peste chez les assiégés.

HIPPOCRATE (400 av. J.C.) signale que des hommes étaient atteints d'une épidémie en respirant un air infecté par des pollutions "hostiles à la race humaine".

LUCRECE dans son "De Natura Reum" écrit :

"Il existe des germes en grand nombre dans l'air qui sont porteurs de maladies et de mort ; lorsque le hasard a rassemblé ces derniers et en a infecté le ciel, l'air devient malsain". "La virulence demeure suspendue dans l'air et lorsque nous respirons cet air contaminé, nous absorbons totalement le poison qui l'infeste".

Puis vient le Moyen-Age avec les terribles épidémies de "peste" puisque sous ce vocable se cachaient de nombreuses affections hautement épidémiogènes par voie respiratoire, soit peste pulmonaire véritable, soit grippe à haute létalité qui décima littéralement l'Europe, et est restée dans l'Histoire sous le nom de Peste noire.

Plus tard apparurent les théories des "miasmes organiques", des "effluves" qui servirent de base aux théories de la génération spontanée.

En 1860, PASTEUR (226, 227) réfute ces théories. Ses travaux rejetaient, après 2000 ans, la théorie de l'hétérogénie et apportaient la preuve de l'existence de germes vivants dans l'air. Le rôle de cet air dans la propagation des maladies infectieuses, rôle qui était suspecté depuis la plus haute Antiquité, pouvait ainsi être expliqué.

Depuis cette époque, de très nombreux travaux ont été mis en oeuvre pour rechercher des germes pathogènes dans les lieux les plus divers.

Nous avons pour notre part, étudié la bactériologie de l'atmosphère de la région Lyonnaise. Après de brefs rappels destinés à mieux cerner le problème - météorologie, survie des germes atmosphériques, techniques de prélèvements de ces germes et présentation des principaux résultats publiés dans la littérature - nous proposerons une méthode originale de diagnostic taxonomique des bactéries que nous avons isolées.

Puis à l'aide des résultats obtenus au cours de nos expériences, nous essayerons de dégager les grandes lignes de la composition quantitative et qualitative de l'atmosphère de la région lyonnaise. De plus, ces résultats seront confrontés avec d'autres paramètres enregistrés simultanément : météorologie et pollution chimique notamment.



CHAPITRE I

NOTIONS DE METEOROLOGIE

1. NOTIONS DE METEOROLOGIE

=====

Il existe des bactéries en suspension dans l'atmosphère. Du fait de leur taille (inférieure à $4 - 5 \mu$ en général), leur étude va entrer dans le cadre plus général de la physique des petites particules en suspension dans l'air. Cependant, nous verrons qu'elles posent certains problèmes du fait, d'une part de leur origine et d'autre part qu'il s'agit de micro-organismes vivants.

Avant d'envisager en détail la destinée des bactéries dans l'atmosphère nous devons faire un rappel de quelques notions de météorologie et de biométéorologie (TROMP) (276).

1.1 Rappels de topographie aérienne

Il est indispensable, tout d'abord, de définir un certain nombre de termes. La troposphère, autrement dit les 10 km d'atmosphère qui entourent la terre, peut être divisée de la manière suivante :

. La couche d'air laminaire composée :

- d'un film d'air moléculaire, adhérant à toute chose, absolument calme et,

- d'une couche laminaire proprement dite, de l'ordre du mm. Son épaisseur varie en fonction de la vitesse du vent et de la nature du relief. En principe, elle n'est pas soumise aux turbulences atmosphériques, mais les différences de températures y sont importantes.

. La couche d'air des turbulences frontières

Cette zone qui peut atteindre plusieurs dizaines de mètres de hauteur est le siège de nombreux aéro-complexes. Les turbulences, dues aux obstacles du relief et aux mouvements de convection thermique, entravent la progression des vents. Dans cette zone, les différences de température, d'hygrométrie, sont moins marquées que dans la zone précédente, les variations étant proportion-

nelles au logarithme de la hauteur.

. La zone de turbulence externe

Elle atteint 1000 m et l'intensité des turbulences diminue en fonction de l'altitude ; elle est réduite à la composante verticale.

Les variations diurnes de température y sont très réduites.

. Zone de convection

Elle s'étend de 1 km à la statosphère (10 km). On n'y trouve plus de turbulences proprement dites, mais des mouvements de masses d'air dues à des différences de température entre ces masses.

1.2. Principes physiques de la diffusion des petites particules.

1.2.1. Vents et turbulences

Les vents sont des mouvements de l'air provoqués par des différences de pression d'un emplacement à l'autre avec une composante due à la rotation terrestre.

On a souvent tendance à parler de "vent moyen" mais il ne s'agit là que d'une convention, vitesse et direction du vent étant sujets à des variations d'amplitude et de direction très fréquentes. Le mouvement de l'air est donc irrégulier.

On peut dire que dans les problèmes posés par les microconstituants atmosphériques, les couches d'air intéressées ont pour limite la zone de convection. Dans ces couches, qui ont une hauteur relativement faible, les mouvements de l'air sont influencés par les obstacles, la nature du sol, les variations topographiques.

Jusqu'à présent nous n'avons envisagé que la composante horizontale. Il existe également une composante verticale, pouvant être à l'origine de turbulences.

Si en règle générale - hormis les grands courants de convection trouvés dans des nuages d'orages par ex. - la vitesse verticale est relativement plus faible que la vitesse horizontale, son rôle dans le brassage et le devenir des petites particules est important.

Vents et turbulences sont responsables des phénomènes de brassage et de diffusion qui sont à l'origine de la pollution de l'atmosphère par les bactéries, les poussières.... Ainsi, sans ce mélange automatique de l'atmosphère, l'homme ne pourrait vivre en communauté et serait très vite empoisonné par son environnement. Cependant les phénomènes de dilution et de brassage sont sous la dépendance de facteurs très divers.

1.2.2. Variations de température avec l'altitude

Normalement, la température diminue en fonction de l'altitude de la surface du sol à la base de la stratosphère ; mais ce n'est pas toujours le cas et il peut se produire une augmentation de la température avec l'altitude, autrement dit un gradient thermique positif. De telles couches peuvent être au voisinage du sol, mais peuvent également se situer à plusieurs centaines de mètres.

La répartition thermique verticale est une question de radiations dans laquelle le soleil, la terre et les nuages jouent un grand rôle. L'air lui-même, nuages exceptés, est aussi mauvais accumulateur que mauvais radiateur. Il est intéressé par les processus d'échanges d'énergie calorifique selon les principes de conduction.

Par un jour clair et calme le sol est chauffé par les rayons solaires, il est amené, de ce fait, à une température nettement supérieure à celle des couches atmosphériques sus-jacentes. Le sol rayonne sa chaleur de manière à peu près analogue au corps noir et va réchauffer légèrement, par conduction, une pellicule d'air immédiatement à son contact.

Cet équilibre entre radiations solaires et radiations terrestres va être atteint au début de l'après-midi ; par la suite, le sol va perdre plus de chaleur qu'il n'en reçoit et la température va tomber. Au coucher du soleil, la source d'énergie calorifique est supprimée mais le sol continue à

rayonner de la chaleur et, par conséquent va se refroidir beaucoup plus rapidement. L'air sus-jacent se refroidira de manière analogue. Nous avons donc ainsi un cycle journalier avec un maximum à la mi-journée et un minimum juste après le lever du jour.

Au-dessus de cette couche superficielle, l'air est relativement insensible à ces échanges par radiations.

Quand le ciel est couvert, une partie importante des radiations est absorbée avant d'atteindre le sol, les nuages étant de très bons radiateurs et accumulateurs ; ils jouent un rôle important dans l'égalisation des températures.

Les vents de forte intensité, entraînent de grosses turbulences et servent aussi à corriger les températures selon un effet purement mécanique.

Il est intéressant de noter que l'action des vents est réversible en quelque sorte, les vents forts ont tendance à uniformiser les températures, créant ainsi un état, sinon d'inversion, tout au moins de stabilité qui entraîne une réduction de la vitesse du vent dans les sens horizontaux et verticaux.

Pour résumer les effets des divers facteurs que nous venons d'étudier (vent, turbulence, gradient thermique) nous pouvons dire que la turbulence et la vitesse du vent détermineront la taille et l'aspect du volume d'air dans lequel un polluant particulaire ou gazeux va être diffusé ; ils affecteront donc la concentration de ce polluant en un point donné.

1.3. Facteurs météorologiques et sédimentation.

Les paragraphes précédents nous ont montré l'influence de certains facteurs météorologiques sur la mise en suspension et le brassage des micro-particules. Il existe également des phénomènes qui ont un rôle très important dans la sédimentation des particules ; il s'agit des phénomènes de condensation et de précipitation.

1.3.1. Généralités

La condensation survient dans l'atmosphère dès que l'air est refroidi au dessous de la température de saturation (point de rosée) ou lorsque de la vapeur d'eau est ajoutée à de l'air préalablement saturé. Une quantité considérable de chaleur est libérée durant la transformation vapeur-eau. Le transfert direct vapeur-solide étant connu sous le terme de sublimation. Alors que la condensation peut débiter à des humidités relatives inférieures à 100 %, la sublimation exige une sursaturation.

Condensation et sublimation exigent habituellement des particules solides, brins d'herbe sur le sol, "droplet nuclei" dans l'atmosphère. Ces derniers sont divisés en deux groupes :

- . les noyaux de sublimation sont généralement formés de particules microscopiques, de particules inorganiques de minéraux ou de roches.

- . les noyaux de condensation ($0,01$ à 50μ) sont composés de petits cristaux de sels, de gouttes d'acide sulfurique, de particules de fumées etc... Leur nombre peut varier de quelques centaines à plusieurs millions/ml.

Ces noyaux entrent en ligne de compte pour l'apparition de la condensation ou des brouillards autour des villes lorsque leur taux dépasse 100 000/ml. Ils sont souvent hygroscopiques et peuvent commencer à absorber de l'eau à partir d'une humidité relative de 80 %.

Ce processus est accéléré par la chute de température (nuits fraîches, ciel clair). Cependant avec une température constante, ce phénomène peut également survenir lorsque l'air sec d'un continent se déplace au dessus de masses océaniques ; du fait de l'évaporation progressive de l'eau de l'océan le taux de vapeur d'eau augmente alors dans l'atmosphère. Dans tous les cas il y a formation de brouillard.

Un air parfaitement pur, sans "droplet nuclei", exigerait une humidité de 420 % avant que les processus de condensation ne se forment. Dans ces conditions les noyaux de condensation seraient vraisemblablement des ions négatifs.

Dans les brumes les plus fines, les gouttelettes de condensation sont généralement de $1\ \mu$. Après avoir atteint la taille de 50 à 200 μ elles forment les nuages de bruine. Avant de commencer à précipiter, les gouttelettes de pluie doivent atteindre une taille supérieure à 200 μ .

1.3.2. Influence du brouillard sur les particules en suspension

S'il existe plusieurs types de brouillards, il n'y a qu'un processus physique de base, le refroidissement. Les plus fréquents, les brouillards de radiation sont le résultat, dans certaines conditions, des refroidissements du sol lorsque le ciel est clair. L'air, à proximité du sol froid est en inversion, réduisant turbulence et brassage. Si le refroidissement continue la température de l'atmosphère peut s'élever ou tomber au dessous du point de rosée et la condensation en gouttelettes de brouillard commence. Cependant, ce n'est pas suffisant pour que l'air devienne saturé ; il faut l'adjonction de noyaux hydrophiles pour donner au brouillard sa pleine extension.

La formation de brouillard implique donc la présence de ces noyaux hygroscopiques en quantité suffisante.

Une autre condition est la présence de vent faible entraînant un brassage modéré et donnant au brouillard son épaisseur. Par vent nul, l'humidité condensée dans les quelques centimètres des couches les plus basses peut se déposer sous forme de rosée uniquement.

Un certain nombre d'impuretés peut servir de noyaux hygroscopiques et l'une des conséquences de la pollution sur le brouillard est d'augmenter le nombre des gouttelettes. De plus, puisque les conditions qui entraînent la formation des brouillards de radiations sont les mêmes que celles qui produisent les inversions thermiques et empêchent ainsi la dispersion rapide de la pollution la concentration en polluants est anormalement élevée par temps de brouillard.

1.3.3. Influence du balayage par la pluie

Les précipitations jouent un rôle effectif dans le "nettoyage" atmosphérique. Cette action est plus importante au coeur des nuages, là où les gouttelettes de pluie se forment activement. Les connaissances sur ce

mécanisme sont encore fragmentaires mais LANGMUIR a montré qu'une goutte d'eau en tombant à travers un agrégat particulaire peut en collecter une partie au passage.



CHAPITRE II
=====

DEVENIR DES BACTERIES DANS L'ATMOSPHERE
=====

2. DEVENIR DES BACTERIES DANS L'ATMOSPHERE

=====

Comme nous venons de le voir, les conditions atmosphériques sont particulièrement hétérogènes et fluctuantes, d'où la difficulté d'une étude analytique des bactéries en suspension dans l'air.

Les bactéries se présentent à la surface du sol, de l'eau, des êtres vivants, sous la forme de microcolonies, plus rarement d'individus isolés. Il est donc difficile d'imaginer un processus naturel "d'aérosolisation". De fait, les mécanismes sont doubles :

1. d'une part, à l'occasion de toux et d'éternuements se créent des "gouttelettes de Flugge" qui, par déshydratation donneront les "droplet-nuclei".

2. d'autre part, la bactérie peut quitter son habitat avec un fragment de support (minéral, squames cutanées, débris végétal, etc....). Elle doit pour cela franchir la couche laminaire, avant d'être entraînée dans la zone des turbulences où elle sera soumise aux divers paramètres météorologiques.

La bactérie ainsi aérosolisée va être soumise à des influences physiques et à des agressions chimiques.

2.1. Sédimentation.

Le devenir de ces bactéries est essentiellement fonction de leur support (taille, poids spécifique, charges électriques... etc) et des mouvements de l'air ambiant.

Au cours des phénomènes dispersifs dus aux vents, elles vont quitter leur support. Ceux-ci peuvent être divisés en particules plus petites, très hygroscopiques, servant de noyaux de condensation. En fonction de la température, de l'humidité ambiante, elles vont, soit devenir très petites par dessiccation,

soit augmenter de volume par hydratation. On aura des éléments de taille infime, formés d'une seule bactérie entourée d'une phase solide ou liquide, à basse pression de vapeur et provenant du milieu de suspension.

C'est en fonction de leur taille, que ces particules soumises à la pesanteur vont sédimenter selon la loi de STOKES :

$$V = \frac{2}{9} \frac{r^2 \cdot g \cdot P}{u}$$

où : V = Vitesse de chute

r = rayon de la particule ou de la goutte

g = accélération due à la pesanteur

P = Densité des particules

u = viscosité dynamique du milieu de chute

A partir de cette équation on peut définir la stabilité de l'aérosol particulaire par sa durée de vie :

$$X = \frac{2}{3} \quad V/h \quad (h \text{ étant la hauteur de chute})$$

Ce phénomène de sédimentation à vitesse constante n'est toutefois valable que pour des particules de 1 à 50 μ de rayon, sphériques, dans des conditions normales de température et de pression.

Il peut être modifié par la coalescence où vont entrer en jeu le mouvement brownien, les charges électriques des particules... etc...

Ainsi, plus une particule est de grosse taille, plus sa sédimentation sera rapide comme l'indique le tableau suivant :

Diamètre (mm) des gouttelettes	Vitesse de chute (cm/sec)	Durée de la chute pour $h = 2 \text{ m}$
0,1	30	6 secondes
0,01	0,3	10 minutes
0,001	0,003	16 heures

Ces phénomènes de sédimentation sous la seule influence de la pesanteur n'existent que dans des conditions de vent faible ou nul (inférieur à 2 m/s).

Nous avons vu précédemment les rôles que pouvaient jouer la pluie et les brouillards. Les gouttes de pluie les plus efficaces sont celles qui ont un diamètre de 2 mm ; elles vont capter 25 % des particules de 2 μ de rayon et 90 % des particules de 10 - 15 μ . Enfin l'impact et l'électrostatisme ne jouent qu'un rôle accessoire pour les particules inférieures à 10 μ .

Nous avons résumé dans le tableau I les mouvements des particules porteuses de bactéries à 10 cm du sol et un vent inférieur à 8 m/sec.

Entre la troposphère et la stratosphère, il n'y a en principe, pas d'échange. En effet, cette dernière est dépourvue de particules d'origine terrestre (exceptions faites pour les très fortes éruptions volcaniques ou les explosions atomiques). Il pourrait exister dans l'autre sens, la possibilité de transfert de météorites porteuses d'organismes extraterrestres résistants à certains paramètres physiques.

Le tableau II, emprunté à WELLS (296), résume les principaux phénomènes que nous venons de décrire.

RAYON en μ	TRANSPORT ET DEPOT DANS LA ZONE ATMOSPHERIQUE	INCORPORATION A L'EAU DE PLUIE	RETOUR TARDIF (Transport à longue distance)
10^2	Chute très rapide en moins de 100 m		
30	Chute variable entre 1 et 3 km	Une fraction est captée par les nuages et par condensation, retombe en pluie	
1 0,1	Une partie se dépose par turbulence et diffusion brownienne, surtout le jour, en quelques km.	La plupart est incorporée à l'eau de pluie surtout par condensation, moins par mouvement brownien	Une petite fraction gagne les couches supérieures de la troposphère avant de regagner, lentement les couches inférieures

TABEAU I : DEVENIR DES PARTICULES EN FONCTION DE LEUR RAYON

	Poussières support	Gouttelettes	Droplet nuclei
Origine	Matières solides	Mucosités nasales ou pharyngées	Résidu d'évaporation des gouttelettes
Production	Attrition	Atomisation	Evaporation
Diamètre	10 à 100 μ	> 100 μ	1 à 3 μ
Vitesse de chute	0,3 m/mn - 0,3 m/sec.	> 0,3 m/sec	< 0,3 m/sec
Durée de la suspension	Courte	< 3 sec.	Prolongée
Dispersion	En nuage	Réduite dans l'espace	Se fait dans l'atmosphère
Concentration	Très forte localement	Intense sur le champ	Diffuse, diluée
Type de bactéries	Saprophytes	Saprophytes et pathogènes	Saprophytes et pathogènes
Aspect des bactéries	Amas	Indéterminé	Rarement plus de 1
Inhalation	Arrêté au niveau du rhinopharynx	Indéterminé	Poumons
Mode d'infection	Infections endémiques à porte d'entrée rhinopharyngée	Infections par contact	Infections épidémiques
Vulnérabilité	Résistants	Indéterminé	Vulnérables

TABEAU II : CARACTERISTIQUES DES DIFFERENTS TYPES DE PARTICULES ATMOSPHERIQUES.

2.2. Conditions de survie.

Dans le chapitre précédent, nous avons envisagé la décroissance des bactéries présentes dans l'atmosphère sous l'aspect purement physique ("physic decay" des Anglo-saxons). A ce phénomène s'ajoute la décroissance due à la létalité des germes dans un environnement qui leur est hostile. La nature de cet environnement a une influence extrêmement importante sur la survie des bactéries. Les paramètres qui vont intervenir sont nombreux et leurs interactions difficiles à définir avec précision.

En 1973, LARSON (166) a proposé l'équation suivante :

$$R = a + bx_1 + cx_2 + dx_3 + ex_4 + fx_5 + gx_6 + hx_1x_2 + \dots + h_i x_1 x_2 x_3 x_4 x_5 x_6 + E$$

où

- R (réponse) = Compétence microbienne
- x_1 = humidité
- x_2 = température
- x_3 = toxicité chimique
- x_4 = toxicité des radiations
- x_5 = taille des particules atmosphériques
- x_6 = facteur de résistance microbienne
- E = erreur statistique.

Cette équation de régression à coefficients multiples permet peut être un certain nombre d'hypothèses mais nos connaissances expérimentales ne conduisent pas, pour l'instant, à une résolution mathématique de R.

C'est pourquoi de nombreux auteurs ont mis au point des procédés expérimentaux permettant l'étude de la survie de bactéries dans des conditions bien particulières (aérosols et lyophilisation notamment). Nous allons dans

un premier temps résumer sous forme de tableaux l'action :

- de la déshydratation - réhydratation
- de l'oxygène et de la composition de l'atmosphère
- des radiations ionisantes
- de l'humidité relative (H.R.)
- de la température
- des polluants atmosphériques

sur la survie des bactéries à l'aide de ces systèmes expérimentaux.

Puis dans un deuxième temps nous en dégagerons les applications pratiques à la survie des bactéries atmosphériques.

2.2.1. Résultats expérimentaux

T A B L E A U N° III
=====

ACTION DE LA DESHYDRATATION ET REHYDRATATION
SUR LA SURVIE DES BACTERIES

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
Cocci Gram + Bacilles Gram -	Lyophilisation	La plupart des cocci sont beaucoup moins sensibles à la dessiccation que les bacilles Gram -.	FRY 1954 (96)
S. marcescens	Bactéries desséchées puis réhydratées	Le taux de bactéries viables après réhydratation est maximum pour un contenu en eau cellulaire de 33 %.	MONK Mc CAFFREY 1957 (214)
S. marcescens	Aérosol	Les effets létaux de l'aérosolisation sont dus à la modification des structures protéiques sous l'effet de la déshydratation	WEBB 1959 (282)
Vibrio metchnikovi Past.multocida Salmonellas Ps. fluorescens S. marcescens E. coli	Lyophilisation réhydratation	Pertes considérables de viabilité lors de la réhydratation, dès la première goutte d'eau pour V. metchnikovi. Les autres germes seraient relativement plus résistants	LEACH SCOTT 1959 (168)
Str. pyogenes	Expérimentation s/l'animal	Les souches "environnement" ayant été desséchées présentent une pathogénécité moindre pour la souris	HINTON MALTMAN ORR 1960 (141)
S. marcescens	Aérosols	Les germes cultivés sur milieu enrichi sont plus sensibles que ceux cultivés en milieu minimum à une élévation de HR de 24 à 51 %.	HATCH DIMMICK 1963 (131)
E. coli K 12	Dessiccation	La dessiccation est capable d'induire la lyse d'E. coli et la production du phage A Protection par l'inositol.	WEBB et coll 1965 (295)
S. marcescens	Membrane filtrante et aérosol	Létalité moins importante sur membrane filtrante qu'en aérosol. Le contenu en eau cellulaire conditionne la survie	WEBB 1965 (290)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
E. coli	Aérosol	L'hygrométrie relative de l'environnement détermine l'équilibre du contenu en eau des corps bactériens. Le taux de mortalité est directement proportionnel à l'évaporation de l'eau cellulaire	HAYARANA POON 1965 (133)
S. marcescens	Aérosol	La déshydratation des cellules aérosolisées entraîne une sensibilité accrue à l'oxygène	HESS 1965 (138)
E. coli	Aérosol	Le taux de mortalité est directement proportionnel au taux d'évaporation d'eau	POON 1966 (237)
P. tularensis	Aérosol	La survie est fonction du contenu en eau des bactéries au moment de l'aérosolisation plutôt que du contenu en eau de la bactérie dans l'aérosol lui-même	COX GOLDBERG 1972 (55)
E. coli	Aérosol	La compression et décompression rapide de l'air entraîne la condensation de la vapeur d'eau. Celle-ci en s'évaporant de nouveau va entraîner un effet létal	DRUETT 1973 (74)
S. marcescens	Aérosol Lyophilisation	La réhydratation a un effet aussi néfaste que la déshydratation. Plus que la variation elle-même c'est le temps de variation qui joue un rôle important	HECKLY 1973 (134)
Kl.pneumoniae	Aérosol	Le taux de mortalité bactérien est inférieur si la réhydratation est instantanée et effectuée avant le prélèvement.	GOLDBERG FORD 1973 (105)

T A B L E A U N° IV

=====

ACTION DE L'OXYGENE ET DE LA COMPOSITION DE L'ATMOSPHERESUR LA SURVIE DES BACTERIES

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUE	OBSERVATIONS	AUTEURS
<i>S. marcescens</i>	Aérosol	L'oxygène atmosphérique tue 95 % des germes en 10 minutes sans participation des modifications de l'hygrométrie	BENEDICT et coll. 1961 (16)
<i>E. coli</i>	Lyophilisation	L'oxygène a un effet létal sur les bactéries lors de la lyophilisation entre les périodes de dessiccation primaire et secondaire	LION BERGMAN 1961 (177)
<i>S. marcescens</i>	Lyophilisation	Démonstration de deux effets antagonistes de l'atmosphère, l'un protecteur, l'autre toxique	BATEMAN et coll. 1961 (10)
<i>E. coli</i>	Lyophilisation	L'activité oxydasique du NADH2 est inhibée, chez <i>E. coli</i> , après exposition à l'oxygène. Cette action n'est pas retrouvée avec <i>S. marcescens</i> .	LION AVI-DOR 1963 (176)
<i>S. marcescens</i>	Aérosol	Les organismes complètement hydratés sont insensibles à l'oxygène. Avec des organismes plus ou moins déshydratés l'O2 est toxique dès la concentration de 10 ppm.	HESS 1965 (138)
<i>E. coli</i>	Aérosol	L'azote est moins toxique que l'oxygène. Trois facteurs d'agression sont déterminants l'air, l'hygrométrie relative et les méthodes de récupération	COX 1966 (45)
<i>E. coli</i> B <i>E. coli</i> commune <i>E. coli</i> Jepp	Aérosol	<i>E. coli</i> B et commune ont une bonne survie dans l'azote. Il n'en est pas de même pour <i>E. coli</i> jepp	COX 1966 (46)
<i>E. coli</i>	Aérosol	La survie est identique dans l'air, l'oxygène et l'azote pour des hygrométries élevées. Pour des HR faibles la survie est meilleure dans l'azote	COX BALDWIN 1967 (52)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
E. Coli	Dessiccation Lyophilisation Aérosolisation	Augmentation de la toxicité de l'oxygène pour une hygrométrie inférieure à 40 %	WEBB 1967 (291)
E. coli B	Aérosol	Etude de la survie dans des atmosphères variables (azote, argon, hélium)	COX 1968 (47)
E. coli B E. coli commune E. coli Jepp Kl. Aerogenes	Aérosol	L'effet toxique de l'oxygène est maximum à 40 % d'hygrométrie. Il possède une action létale même avec une très faible pression partielle	BENBOUGH 1969 (14)
P. Tularensis	Aérosol	L'oxygène peut avoir des effets complexes : protecteurs ou toxiques, selon la composition du liquide dans lequel se trouve la suspension bactérienne.	COX 1971 (50)
E. coli B	Aérosol	La survie dans l'air est moins bonne que dans l'azote. Les cellules en phase logarithmique sont moins stables	COX et Coll. 1971 (53)
E. coli	Aérosol	La létalité induite par l'O ₂ n'est pas due à une modification de la synthèse de l'ADN, à la différence de ce qui se passe dans les bactéries tuées par les phénomènes mécaniques de l'aérosolisation.	ISRAELI 1973 (145)
S. marcescens	Aérosol	L'effet létal est une action combinée de l'oxygène et de l'humidité.	COX GAGEN BAXTER 1974 (54)

T A B L E A U N° V
=====

ACTION DES RADIATIONS IONISANTES

SUR LA SURVIE DES BACTERIES

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
Flore atmosphérique normale	Utilisation des UV dans une salle d'hôpital	Action germicide certaine des rayons UV	HARSTAD DECKER WEDUM 1954 (127)
P. pestis P. tularensis	Irradiation similaire à celle de la lumière	Décroissance de la viabilité de P. tularensis proportionnelle à l'intensité de la lumière. On ne retrouve pas cette proportionnalité avec P. Pestis	BEEBE PIRSCH 1958 (13)
Bacillus (spores)	Irradiation par RX	Il existerait deux sortes de spores selon leur sensibilité aux rayons X - Spores à cibles multiples à haute teneur en acide dipicolinique - Spores à cibles simples	WOESE 1959 (302)
P. tularensis	UV solaire	Décroissance de la viabilité proportionnelle à l'intensité de la lumière. Les aérosols secs sont plus résistants.	BEEBE 1959 (12)
S. marcescens	UV	La perte de viabilité est proportionnelle au temps d'exposition. Il existe des possibilités de restauration secondaire	DIMMICK 1960 (70)
P. tularensis	Aérosols	Les grosses particules sont plus résistantes que les petites aux effets des rayons solaires La meilleure protection est obtenue pour une HR de 70 %	GOODLOW LEONARD 1961 (107)
S. marcescens	Aérosols	Il existe deux bandes à action létales dans les UV 3400-4500 et 5200-5800 Å. La bande visible est moins toxique que l'autre. Les effets "visible-UV" sont additifs si l'exposition est simultanée mais on observe des réactivations si l'exposition au visible suit celle aux UV	WEBB 1961 (284)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
Z. coli B Achromobacter M. radiodurans	Rayons X	Les souches Gram + sont plus résistantes que les bactéries Gram -	THORNLEY 1963 (269)
E. coli	UV	L'action létale des rayons UV est bloquée par l'eau et l'inositol qui empêchent la fuite des éléments minéraux par la paroi	WEBB 1963 (286)
Virus du sarcome de ROUS	UV	La létalité maximum est observée pour une zone de 3000-4000 Å et une HR de 30 %. Prévention par l'inositol (interaction au niveau des groupements OH).	WEBB 1963 (288)
E. coli	UV Dessiccation	On obtient le maximum de mutants par action de la dessiccation et des UV à 40 % d'HR.	WEBB 1964 (289)
S. marcescens Pseudomonas	Aérosols RX UV	S. marcescens est peu sensible aux RX en dessous de 50 % d'HR la mortalité augmente entre 50-70 %. Pour S. marcescens et pseudomonas les UV n'ont pas d'action au dessus de 70 % d'HR diminution rapide de la survie en dessous de ce taux	WEBB et coll. 1964 (293)
E. coli	RX	Action létale maximum pour une hygrométrie de 70-80 % ; moins sensible en dessous de 70 %. Les radiations agiraient par ionisation de l'eau libre de la cellule	WEBB DUMASIA 1964 (294)
M. violaga- briellae	UV	Action létale en fonction du temps d'exposition de l'O ₂ et de l'HR. Action réversible sur un site nucléaire ou irréversible sur un site nucléaire	PAYNE CAMPBELL 1965 (229)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
<i>S. marcescens</i>	Aérosols RX	Inactivation maximum des cellules pour une hygro- métrie relative de 70 %	MORRISON CORMACK 1965 (215)
Mycoplasmes	Aérosols UV	Les mycoplasmes sont détruits de manière prati- quement instantanée, à 99,9 % par les UV	KUNDSIN 1966 (158)
Mycoplasmes <i>E. coli</i> <i>N. meningitidis</i> <i>Candida albicans</i> Formes L....	Aérosols UV	Les UV (2537 Å) détruisent de manière instantanée bactéries et mycoplasmes 98 % des <i>Candida albicans</i> 87 % des formes L de Staphylocoques 69 % des formes L des diphthérimorphes	KUNDSIN 1968 (159)
<i>Rhizobium</i>	Aérosols UV	Les effets biologiques des UV (3000-4000 Å) sont aug- mentés pour une HR élevée et diminués avec une HR basse	WON ROSS 1969 (306)
<i>E. coli</i>	Aérosol	L'irradiation des deux souches avec une lumière solaire artificielle entraîne une perte significative de la viabilité	DORSEY BERENDT NEFF 1970 (73)
<i>S. marcescens</i>	Aérosols UV	Dans l'aérosol on se trouve en présence de deux popula- tions présentant des sensibi- lités différentes aux UV	RILEY KAUFMAN 1972 (249)
<i>E. coli</i> B	Aérosols	Ce ne sont pas les mêmes fac- teurs qui entrent en jeu dans les phénomènes de réparation après irradiation d'une popu- lation bactérienne par les UV et les RX	HATCH BONDURANT EHRESMAN 1973 (130)

T A B L E A U N° VI

=====

ACTION DE L'HUMIDITE RELATIVE (HR)

SUR LA SURVIE DES BACTERIES

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
Streptocoque groupe C	Aérosols	Les hygrométries basses sont les plus toxiques	WELLS ZAPPOSODI 1942 (297)
Salm.pullorum	Aérosols	Le taux de mortalité augmente lorsque HR passe de 15 à 80 %	D.E.O.M.E. 1944 (68)
M. candidus E. coli	Aérosols	La viabilité du nuage bactérien est sous l'étroite dépendance de l'hygrométrie	FERRY et coll. 1951 (88)
Achromobacter E. coli Pseudomonas	Aérosols	Pour une température de 0° C le taux de mortalité le plus faible est observé avec une HR de 70 %. Au dessus et au dessous de cette valeur la létalité augmente	BROWN 1953 (28)
M. candidus	Aérosols	Relation étroite entre la létalité et l'hygrométrie	FERRY MAPLE 1954 (89)
E. coli S. marcescens M. candidus Coryn.Xerose	Aérosols	E. coli et S. marcescens sont les plus fragiles des espèces étudiées. L'effet létal serait dû à la déshy- dratation (évaporation dont l'intensité est liée à la forme et à la nature de la paroi)	FERRY BROWN DAMON 1958 (87)
P. pestis P. tularensis	Aérosol	Décroissance linéaire de la viabilité avec l'élévation de l'hygrométrie	BEEBE - PIRSCH 1958 (13)
E. coli M. lysodeitikus S. marcescens	Aérosols	Le taux de mortalité est plus élevé à 93 % d'HR que pour des taux plus bas	DAVIS BATEMAN 1960 (63) et (64)
S. marcescens	Lyophilisation	La mortalité augmente lorsque la teneur en eau des cellules s'abaisse de 90 à 20-30 %	BATEMAN Mc CAFFREY MONK 1961 (10)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
<i>P. tularensis</i>	Aérosols	Une HR de 70 % protège contre les effets des rayons solaires. Les aérosols "secs" sont plus résistants que les "humides"	GOODLOW LEONARD 1961 (107)
<i>S. marcescens</i>	Aérosols	Existence d'une zone critique qui pourrait correspondre à la disparition de l'eau cellulaire et altération des acides nucléiques. Elle peut être remplacée par l'inositol	WEBB 1963 (287)
<i>Staph. aureus</i>	Dépôt sur des surfaces	La meilleure survie est obtenue pour une température de 25° C et une HR de 11 à 33 %. La létalité augmente à 53 - 85 %	Mc DADE HALL 1963 (184)
<i>E. coli</i> 0126 <i>S. derby</i> <i>Ps. aeruginosa</i> <i>P. vulgaris</i> <i>P. morganii</i>	Dépôt sur des surfaces	Meilleure survie à 25° C et une HR de 11 %. Pour des HR de 53 à 85 % on ne retrouve aucun corps bacillaire viable après 48 heures	Mc DADE HALL 1964 (185)
<i>St. aureus</i>	Dépôt sur des surfaces	Pour une température de 50° C la survie la meilleure est obtenue à 10 % d'HR ; la moins bonne à 49-86 %	Mc DADE HALL 1964 (186)
<i>S. marcescens</i>	Aérosol	Les organismes parfaitement déshydratés sont insensibles à l'oxygène. Il n'a pas été observé de perte de viabilité pour des aérosols de cellules "lavées", pour une HR de 97 %	HESS 1965 (138)
<i>E. coli</i>	Aérosol	La mortalité bactérienne est directement proportionnelle à l'évaporation de l'eau cellulaire, donc aux paramètres température et HR. Ce serait l'explication de la mortalité importante qui survient dans les secondes suivant l'aérosolisation	HAYARANA POON 1965 (133)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
E. coli	Aérosol	Il existe un taux d'HR pour lequel la létalité est la plus importante. Pour E. coli il y a 3 seuils à 97, 85 et 50 %	ANDERSON 1966 (3)
E. coli	Aérosol	Le taux de mortalité est directement proportionnel au taux d'évaporation d'eau. Les additifs jouent un rôle en modifiant le taux d'évaporation des cellules.	POON 1966 (237)
E. coli	Aérosol	Il n'est pas évident que les variations d'hygrométrie aient une influence néfaste sur la survie	HATCH DIMMICK 1966 (132)
E. coli	Aérosol	Aux hygrométries élevées il existe une zone où la bactérie est particulièrement instable	COX 1966 (45)
E. coli B E. coli commune E. coli Jepp	Aérosol — —	Bonne survie d'E. coli B et commune entre 20 et 100 % d'HR si on a fait remonter l'hygrométrie à 100 % avant la collecte de l'aérosol	COX 1966 (46)
P. pestis	Aérosols	Décroissance brutale de la viabilité à des HR élevées (65-85 %), sous la dépendance également du milieu de recueil	WON ROSS 1966 (304)
E. coli B	Aérosol	Pour une hygrométrie élevée la survie est identique dans l'oxygène, l'air ou l'azote. A une HR basse la survie est meilleure dans l'azote	COX BALDWIN 1967 (52)
S. marcescens E. coli	Aérosol Dessiccation Lyophilisation	Effet maximum de l'oxygène sur la viabilité bactérienne lorsque l'HR tombe en dessous de 30 %	WEBB 1967 (291)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
E. coli B	Aérosol	Il existe dans l'azote et l'argon deux zones d'instabilité entre 80-90 % et 97-100 %. Légère augmentation de la survie à 86 %	WON ROSS 1969 (292)
Rhizobium	Aérosol	Pour une température de 20°C la survie est maximale pour une HR élevée et minimale à basse HR. Une HR élevée augmente, par contre, l'activité bactéricide de NO ₂ et SO ₂ . De même une HR élevée augmente les effets biologiques des UV	WON ROSS 1969 (292)
E. coli B E. coli commune E. coli Jepp Kl.aerogenes	Aérosol	Effet bactéricide maximum de l'oxygène aux hygrométries les plus basses	BENBOUGH 1969 (14)
E. coli B/R E. coli WE 25	Aérosol	L'oxygène augmenterait la mortalité due à la déshydratation d'E. coli B/R. Il existerait un mécanisme réparateur des lésions dues à la déshydratation, mécanisme inhibé par l'O ₂	WEBB 1969 (292)
Flavobacterium	Aérosol	A 24° C la survie des flavobacterium ne paraît pas comme étant significativement différente pour une hygrométrie variant entre 25 et 99 %	EHRlich MILLER WALKER 1970 (81)
E. coli B	Aérosol	La survie des bactéries, à partir d'un aérosol sec, est meilleure avec une HR basse. A haute HR il existe des zones d'instabilité. La survie dans l'air est inférieure aux basses HR, supérieure pour les hautes HR	COX 1970 (49)
Kl. pneumoniae	Aérosol	Les résultats varient suivant le liquide d'aérosol. Pour l'eau distillée et le glycérol la survie est mauvaise à 55 % bonne à 30 et 80 %. Les résultats sont inverses avec le raffinose à 6 %	MALTMAN 1970 (198)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
<i>P. tularensis</i>	Aérosols	Dans l'azote et dans l'air la survie minimum se situe à 50-55 % d'HR si l'aérosol est liquide. Elle se situe à 75 % si c'est un aérosol sec.	COX 1971 (50)
<i>P. tularensis</i>	Aérosol	La survie bactérienne est fonction du contenu en eau de la cellule au moment de l'aérosolisation plutôt que du contenu en eau de la bactérie dans l'aérosol lui-même	COX GOLDBERG 1972 (55)
<i>Kl. pneumoniae</i>	Aérosol	L'oxygène a un effet toxique minimum à une hygrométrie de 0 % et minimum pour une hygrométrie de 90 %	GOLDBERG FORD (105)
<i>E. coli</i> <i>Br. suis</i> <i>St. aureus</i>	Aérosol	Dans un venturi 24 dépressions et compressions entraînent une mort rapide des bactéries quelque soit l'hygrométrie (24-80 %)	DRUETT 1973 (74)
<i>P. tularensis</i>	Aérosols	Pour une hygrométrie de 45-55 % la demi-vie est de 3,5 à 4,7 mn elle est de 23 mn pour 85-95 %	LARSON 1973 (166)
<i>E. coli</i>	Aérosol	Décroissance par courbe d'équation semi exponentielle en fonction du taux d'humidité et d'autres paramètres encore	COX 1976 (51)

T A B L E A U N° VII
=====

ACTION DE LA TEMPERATURE SUR LA SURVIE DES BACTERIES

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
<i>S. pullorum</i>	Aérosols	Diminution de la viabilité lorsque la température passe de 28 à 37°	D.E.O.M.E. 1944 (68)
<i>Achromobacter</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomonas</i>	Aérosols	Entre 0° et 10° C la mortalité passe de 2 à 5 pour <i>E. coli</i> en phase logarithmique. Avec des cellules anciennes le taux de mortalité n'est pas affecté par la température pour une HR supérieure à 90 %	BROWN 1954 (29)
<i>S. marcescens</i>	Aérosol	A très basses températures les variations d'HR n'ont pas d'effet. A 32° C le taux de létalité augmente avec l'HR. Importance, également des milieux de recueil qui doivent avoir une température de 18-24° C pour les milieux solides, moins de 18° C pour les milieux liquides	KETHLEY FINCHER COWN 1957 (153)
<i>M. candidus</i> <i>E. coli</i> <i>Myc. phlei</i> <i>C. xerose</i> <i>S. marcescens</i>	Aérosol	En atmosphère d'azote, le taux de mortalité augmente de 2 à 3 fois à chaque élévation de la température	FERRY et coll. 1958 (86)
Staphylocoque	Aérosol	Au dessous de 0° C la mortalité est pratiquement nulle. Elle est très augmentée au dessus de 25° C	WEBB 1959 (282)
<i>E. coli</i>	Cultures	Etude sur la renaturation thermique du DNA	MARMUR DOTY 1961 (200)
<i>S. marcescens</i>	Cultures	Présence dans les cultures en phase logarithmique d'une population qui serait thermostable (52° C) et se multiplierait après le choc thermique	HESS SHON 1962 (139)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
A. aerogenes	Aérosol	Traitement thermique à 40° C en milieu minimum. En croissance logarithmique peu de cellules viables. En phase post-logarithmique toutes restent viables	HARRISON LAWRENCE 1963 (128)
St. aureus	Aérosol	La meilleure survie est obtenue à 20, 30 et 37° C pour une HR de 95-98 %. Il n'y a pas de différence de viabilité en fonction de HR à 4° C.	Mc DADE HALL 1963 (183)
Germes non sporulés	Exposition sur des surfaces	Parmi les nombreux facteurs qui entrent en jeu en ce qui concerne la thermorésistance on note la concentration cellulaire, l'âge, les conditions de culture	HANSEN RIEMANN 1963 (121)
E. coli	Aérosol	La température dirige l'échange de vapeur d'eau ainsi que l'échange de chaleur entre la bactérie et l'environnement. Le taux de mortalité augmente de manière logarithmique avec la température	HAYARANA POON 1965 (133)
S. marcescens	Cultures	Description d'un phénomène rythmique de récupération d'une population bactérienne exposée à un traitement thermique bref	DIMMICK 1965 (71)
Staphylocoques	Etudes sur des surfaces	La meilleure température de multiplication est de 32° C et la plus défavorable 24° C	VESLEY KEENAN HALBERT 1966 (280)
Flavobacterium	Aérosol	Excellente survie à - 30° C	WON ROSS 1968 (305)

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
S. marcescens E. coli	Aérosol	Une augmentation de température de -18°C à $+40^{\circ}\text{C}$ augmente le taux de mortalité de manière linéaire	EHRlich MILLER WALKER 1970 (82)
P. tularensis	Aérosol	La meilleure survie est observée entre -7°C et $+3^{\circ}\text{C}$. En fait la survie n'est pas affectée de manière sensible entre -40°C et $+24^{\circ}\text{C}$. Elle est très diminuée entre 24°C et 35°C	EHRlich MILLER 1973 (80)
S. marcescens	Cultures	Description d'un phénomène de "récupération" des cellules tuées par la chaleur	DIMMICK 1973 (72)
St. aureus	Cultures	Un choc thermique (52°C) entraîne une fuite de Mg ainsi qu'une perte de la tolérance aux concentrations élevées en ClNa.	HURST HUGHES COLLINS- THOMPSON 1974 (144)

T A B L E A U N° V I I I

=====

ACTION DES POLLUANTS ATMOSPHERIQUES

SUR LA SURVIE DES BACTERIES

ESPECES BACTERIENNES	TECHNIQUES	OBSERVATIONS	AUTEURS
Ps. fluorescens St. aureus Str. durans Lactobacillus Clostridium	Bactéries déposées sur des filtres et exposées dans un caisson	NO ₂ et HNO ₂ sont de puis- sants bactéricides. NO est peu actif sur P. fluorescens NO ₂ est très actif sur toutes les souches. NO est inactif en anaérobiose, très actif en aérobie par transfor- mation en NO ₂	SHANK SILLIKER HARPER 1962 (260)
S. marcescens E. coli	Aérosol	Le 1-hexène est peu toxique et le NO ₂ très toxique pour S. marcescens. E. coli est plus résistant.	JACUMIN JOHNSTON RIPPERTON 1964 (148)
Photob. phosphoreum	Aérosol	Comparaison d'activité entre le cis-2-butène et NO à diverses concentrations	SERAT BUDINGER MUELLER 1965 (258)
E. coli	Cultures	La synthèse d'ADN est inhibée par le KCN (0,01 M) et par le CO, mais dans ce cas, de manière réversible	CAIRNS DENHARDT 1968 (33)
Rhiz. melitoti	Aérosol	L'activité bactéricide de NO ₂ et SO ₂ est augmentée pour des hygrométries élevées	WON ROSS 1969 (306)
E. coli	Cultures	Les aldéhydes sont bactéri- cides surtout pour des temps d'exposition importants	BOULEY DUBREUIL PRULIERE 1972 (24)
E. coli	Technique des réseaux	Présence d'un facteur bacté- ricide dans l'atmosphère (oléfines + O ₃) = Open Air Factor	de MICK 1976 (66)

Les tableaux que nous venons de présenter conduisent à un certain nombre de réflexions. Tout d'abord le manque de standardisation des méthodes est évident : souches, techniques d'aérosolisation, de prélèvements varient d'un auteur à l'autre. Par ailleurs, très souvent, ce n'est pas un seul paramètre à la fois qui varie mais plusieurs d'où de grosses difficultés dans les interprétations.

Cependant, nous allons tenter de résumer ces travaux et d'en dégager les conséquences sur la survie des bactéries que nous allons étudier, c'est à dire les bactéries atmosphériques.

2.2.2. Applications pratiques à la survie des bactéries atmosphériques.

2.2.2.1. *Humidité relative*

Aux hygrométries très basses (en dessous de 20 % d'humidité relative) les germes qui ont résisté, lors de leur passage dans la zone d'instabilité de 20 à 40 %, ont un taux de survie convenable.

Entre 60 et 85 %, la létalité est importante.

Enfin au dessus de 85 %, la viabilité est élevée, mais elle est fonction de la nature du germe. Récemment il a été montré que le taux de 86 % est celui qui donne les meilleurs résultats.

2.2.2.2. *La déshydratation et les altérations pariétales ou métaboliques.*

Une déshydratation intense peut affecter la couche monomoléculaire qui entoure la bactérie. Ce phénomène sera à l'origine des troubles d'origine pariétale mis en évidence par BATEMAN et coll. (11). Il semble cependant que cette déshydratation provoque surtout des mouvements intracellulaires de l'eau liée, comme l'a montré WEBB (283) et (285).

Une des périodes critiques de ce phénomène pourrait être celle où l'eau cellulaire disparaît des acides nucléiques, entraînant en déplacement des liaisons hydrogènes et une modification de leur configuration. Des dérivés de la thymine peuvent ainsi se former, bloquant la fonction de l'A.D.N.

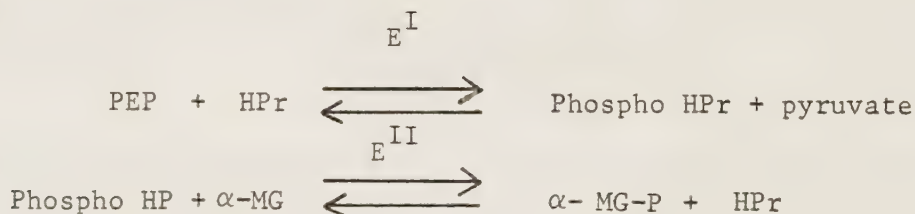
Les conséquences de la modification de la paroi bactérienne ont été particulièrement étudiées. Ainsi ANDERSON et coll. (5) (6) a montré par étude radioisotopique au K^{43} et P^{32} une fuite très rapide de ces composés.

On a pu évaluer à 20 % la perte de poids subie par la bactérie lors de son aérosolisation.

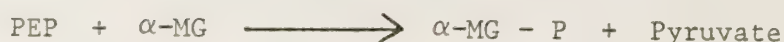
Le remplacement et la resynthèse des composants ainsi exsudés exigent, obligatoirement, un mouvement adéquat des métabolites dans la bactérie atteinte.

Les travaux de BENBOUGH et HAMBLETON (15) permettent de conclure que la survie des bactéries est en relation avec les atteintes de mécanismes régissant l'accumulation intra-cellulaire des métabolites. Ces auteurs ont étudié, en particulier, les effets de l'aérosolisation sur l'accumulation d'un corps voisin du glucose, non métabolisable : le méthyl- α -D-glucopyranoside marqué au C^{14} (α -MG), chez E. coli.

Son incorporation dans la bactérie implique l'action de phospho-énolpyruvate (PEP) qui dépend du système des phosphotransférases. Dans ce système, le transfert du groupement phosphate du PEP à une petite protéine (HPr) de PM 8000 est catalysé par l'enzyme I. Le transfert suivant, du groupement phosphate de HPr à l' α -MG (ou au glucose) est catalysé par l'enzyme II :



soit en résumé



Ce schéma peut être appliqué à d'autres hexoses. La phosphorylation par le système des phosphotransférases est donc une étape essentielle dans le processus du transport du glucose ou de l' α -MG dans la bactérie.

Lors de l'aérosolisation, dans la seconde qui suit, l'accumulation d' α -MG diminue de 10 à 20 %. La décroissance de l'activité de transport de la bactérie est en rapport avec la perte de viabilité de la bactérie aérosolisée.

Ces mêmes auteurs ont démontré que la diminution de l'activité de transport de l' α -MG n'était pas due à une augmentation du taux de sortie de l' α -MG libre, mais à l'abandon de composants du système de transport actif. Cette hypothèse est confirmée par la restauration partielle de l'activité de transfert de l' α -MG lorsque la bactérie aérosolisée est incubée avec des substances exsudées.

Ces troubles du système de transfert n'affectent pas de manière immédiate, la viabilité, mais les dommages causés à la bactérie ne peuvent être réparés, du fait de l'absence des produits de métabolisme intermédiaire. Il y a donc des troubles de la perméabilité de la membrane (ce phénomène étant réversible) (MALTMAN (197)), ce qui paraît confirmé par l'action des agents protecteurs dont l'activité dépend, avant tout, de leur possibilité de pénétrer à travers la paroi (COX) (44).

Le point le plus important est celui de la restauration des lésions pariétales. Pour HAMBLETON (122) le retour à la normale est du même type que celui décrit par LEIVE (172), avec des bactéries traitées à l'EDTA.

La meilleure restauration surviendrait lorsque la bactérie est incubée dans un milieu riche, la moins bonne avec des milieux minimum, sans source énergétique carbonée. Le magnésium, le zinc, le fer auraient également, une action bénéfique par stabilisation des structures pariétales endommagées. Cette restauration, indépendante de la synthèse des ARN et des mucopeptides, est par contre, sous la dépendance des métabolismes énergétiques. Si on découple les phosphorylations oxydatives par le 2-4-dinitraphénol il n'y a pas de réadaptation possible.

2.2.2.3. *La lumière et les rayonnements*

La lumière solaire, et plus particulièrement les rayons ultraviolets, présentent une action bactéricide variable selon la longueur d'onde, l'humidité relative, la teneur en oxygène et le temps d'exposition.

Il faut noter aussi la possibilité de restauration spontanée ou par certains facteurs comme l'eau ou même des longueurs d'ondes bien particulières.

On conçoit donc aisément que l'exposition à la lumière des bactéries atmosphériques soit un facteur important de létalité, notamment en altitude.

2.2.2.4. *La température*

La température joue un rôle important dans la survie des bactéries :

- si celles-ci sont en phase logarithmique, la décroissance est nette,
- par contre, peu d'action pour les cellules âgées.

Ceci met encore l'accent sur le fait que le métabolisme bactérien est très touché par les agents extérieurs surtout lorsque ce métabolisme est en pleine activité.

En résumé, nous pouvons retenir que la mortalité des bactéries augmente en même temps que la température.

2.2.2.5. *Facteurs bactéricides et pollution*

Parmi les polluants les plus fréquents, ce sont le NO₂ et le SO₂ qui présentent la plus grande toxicité vis à vis des bactéries atmosphériques. Mais, de plus, l'air des espaces libres peut contenir dans certaines circonstances, un facteur bactéricide, lequel est absent en air propre, aux mêmes

conditions de température et d'humidité relative.

C'est l'OPEN AIR FACTOR (O.A.F.).

Ce facteur a été décrit en 1968 par DRUETT et PACKMAN (76).
L'O.A.F. est très instable et ne peut pas être étudié avec des aérosols en système clos.

MAY et DRUETT (208) durent mettre au point un dispositif spécial d'expérimentation constitué par des fils d'araignées fixés sur un cadre. Les bactéries à étudier sont déposées sur ces fils, lesquels sont exposés à l'air ambiant, donc dans un système non clos. C'est par cette technique que DEMIK (66), en 1976, a étudié la survie de E. coli MRE. 162 dans différents sites des Pays-Bas afin de détecter la présence possible d'O.A.F.

MAY-DRUETT et PACKMAN (209), en 1969, ont aussi étudié l'O.A.F. avec les souches bactériennes suivantes :

- Serratia marcescens
- Pasteurella Tularensis
- Brucella Suis
- Staphylococcus epidermidis
- Staphylococcus groupe C

Cependant la nature exacte de l'O.A.F. n'est toujours pas connue.

MAY et DRUETT montrent (75) dès 1968 qu'il n'existe pas de relation entre O.A.F. et certains corps comme :

- l'ozone
- le gaz sulfureux
- les oxydes d'azote
- le formol
- ou des ions atmosphériques.

Par contre, DARK et NASH (60) en 1970, prouvent qu'il existe un rapport entre l'O.A.F. et un air contenant des traces d'oléfines.

Les oléfines sont présents en quantités variables selon les régions ; les sources en sont la circulation automobile et les industries pétrochimiques.

Par oléfines, il faut entendre des composés tels que :

- l'acétylène
- l'éthylène
- le propène
- le propane
- le cyclohexène
- le trans-2-butène.

HARPER (124) montre que l'air prélevé près d'une raffinerie de pétrole est très toxique pour les bactéries.

,

Entre 1973 et 1975, de très nombreux auteurs :

- COX - HOOD et BAXTER (56)
- GUICHERIT (113)
- GUICHERIT - HOOGREVEEN - LINDQUIST (114)
- HOOD (143)
- DRUETT - PACKMAN (77)

étudient l'O.A.F. Il en ressort que l'inactivation des bactéries est proportionnelle à la concentration en O.A.F. ; que c'est la réaction ozone - oléfine qui produit cette substance, que le vent joue un rôle très important, enfin que l'O.A.F. est également viricide.

On rappellera que l'ozone est un constituant normal de l'atmosphère à haute altitude. Il est rabattu au sol par les turbulences et, dans les basses couches, son taux peut atteindre 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Il peut également apparaître en plus grande quantité lors de certains "smogs". C'est ainsi que des concentrations de 1000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ont été enregistrées à LOS ANGELES. GUICHERIT - JELTES - LINDQUIST 1972 (115).

De même, les oléfines se trouvent à des concentrations variables selon le lieu de prélèvement.

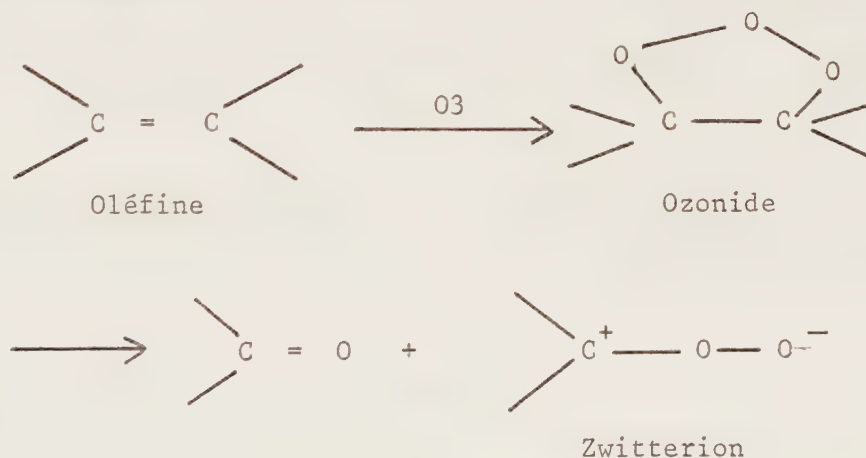
Pour obtenir un rapide effet bactéricide DEMIK (66) a montré que cette concentration devait être élevée ce qui implique en corollaire une très forte pollution chimique. Plusieurs systèmes ont été étudiés par cet auteur :

- un mélange ozone - oléfine a montré sur le bactériophage ϕ X 174 que l'ozone a une très légère action ; le trans-2-butène et le cyclohexène, isolés, n'ont aucune action ; la combinaison de ces deux substances présente une forte activité bactéricide .

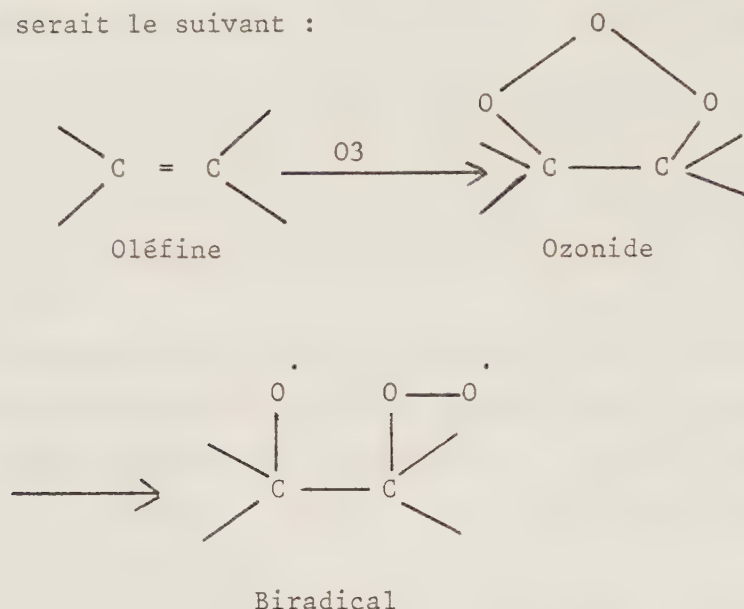
Des résultats similaires ont été obtenus E. Coli MRE 162 en aérosol, avec le mélange ozone + cyclohexane. On constate une inactivation des cellules bactériennes.

De nombreuses études chimiques ont été entreprises sur la réaction ozone - oléfine.

Pour LEIGHTON (170) on doit admettre la réaction de CRIEGEE pour expliquer l'ozonolyse des phases gazeuses. Au début, il se forme un ozonide, lequel se décompose en un radical carbonyl et un zwitterion. Ce dernier subira des arrangements ultérieurs tels que :



Pour O'NEAL (223) un nouveau mécanisme a été proposé récemment.
Le schéma serait le suivant :



Le biradical obtenu réagirait selon plusieurs voies, et les produits obtenus auraient une action bactéricide ou virulicide.

Le problème de l'O.A.F. semble moins étudié actuellement. La technique des réseaux est particulièrement délicate à manier, mais surtout il est difficile d'expliquer l'absence d'activité de ces mélanges dans un local clos, et surtout la perte importante d'activité d'un air pollué quand il est enfermé dans une enceinte. En revanche, l'ozonisation des oléfines dans une enceinte entraîne bien une activité bactéricide. Les réactions proposées ci-dessus ne sont peut être qu'un des mécanismes de la chimiotoxicité de l'atmosphère.

A l'issue de ce chapitre, nous pouvons en déduire que les bactéries présentes dans l'atmosphère sont relativement fragiles et sensibles au milieu ambiant.

Il reste cependant à considérer les différents traumatismes dus aux appareils de piégeage et aux méthodes de cultures. Ce sera le but du chapitre suivant.



C H A P I T R E I I I

LES TECHNIQUES DE PRELEVEMENT

=====

3. LES TECHNIQUES DE PRELEVEMENT.

=====

La qualité et la reproductibilité des prélèvements conditionnent toutes les études d'aérobiologie.

3.1. Principes généraux.

En 1946, LUCKIESH, TAYLOR et HOLLADAY (180) ont énoncé un certain nombre de critères auxquels doivent répondre les appareils de prélèvements :

- le premier est d'ordre purement physique : les bactéries sont des particules définies, on peut donc adapter à leur étude, les méthodes mises au point pour mesurer les concentrations de particules dans l'atmosphère.

- le second est d'ordre biologique : les bactéries sont des organismes vivants, qui doivent le rester après dispersion dans l'air.

Une revue détaillée sur la physique des aérosols a été faite par FUCHS (97) qui conclut :

"le problème des prélèvements d'aérosols n'a pas été résolu, la principale difficulté étant l'évaluation de la concentration exacte, dans un aérosol ordinaire, en mouvement".

Dans la plupart des cas, on est en régime turbulent, surtout dans les prélèvements en atmosphère libre ; c'est à dire que la vitesse du vent va subir des variations très importantes. Celles-ci vont perturber le prélèvement des particules d'autant plus qu'elles auront un diamètre élevé.

En aérobiologie, les particules qui présentent un intérêt épidémiologique ont des diamètres relativement faibles (entre 1 et 10 μ pour les particules inhalables). Les remarques que nous venons de faire sont donc de moindre intérêt.

Il en est de même en ce qui concerne l'orientation de la prise d'air par rapport aux filets d'air. Ainsi, les grosses particules ($> 100 \mu$

de diamètre) ne peuvent être recueillies si l'orifice d'aspiration fait un angle de 90° avec l'axe du courant aérien. Les effets de parois (effet COANDA) sont aussi à considérer. On peut les diminuer en employant des orifices d'aspiration aussi grands que possible. De plus, les parois de cet orifice devront être très minces.

Sur le plan pratique, on peut pallier ces difficultés, provenant des turbulences des filets d'air, en adaptant le débit d'aspiration à la vitesse des courants gazeux. En ce qui concerne l'orientation on peut asservir l'orifice d'aspiration à une girouette. Enfin la prise d'air peut être protégée par la mise en place d'une coupole hémisphérique placée derrière elle et de taille suffisante pour ne pas modifier la concentration particulière.

3.2. Les techniques de prélèvements d'air pour étude bactériologique.

Depuis les travaux de PASTEUR (227), de nombreux auteurs ont envisagé l'étude des bactéries atmosphériques. En consultant la volumineuse littérature qui s'y rapporte, on est frappé par la multiplicité des méthodes proposées, ce qui permet de penser qu'aucune n'est parfaite.

Rappelons encore une fois, que nous nous trouvons devant un double problème :

- les prélèvements doivent être significatifs et reproductibles ,
- ils doivent respecter la viabilité bactérienne.

Plusieurs revues détaillées ont déjà traité le problème des prélèvements microbiologiques (WOLF 303 - HERMANN 137 - GREGORY 111).

Les principes utilisés dans ces appareils peuvent se regrouper en huit grands types :

- la sédimentation
- la centrifugation
- la filtration
- le barbotage

- les méthodes par choc - en milieu solide
 - en milieu liquide
- la précipitation électrostatique
- la précipitation thermique
- les méthodes par interception.

Ce sont ces huit types que nous envisagerons successivement.

3.2.1. La sédimentation

C'est la méthode la plus anciennement utilisée par les bactériologistes, et certainement la plus employée du fait de sa simplicité et de son prix de revient très faible. Elle consiste à recueillir les bactéries sur un milieu nutritif qui sera étudié après un délai d'incubation convenable.

Proposée par KOCH en 1881 qui exposait à l'air des plaques de verre recouvertes de gélose nutritive, cette technique a ensuite été employée par MIQUEL (211) avec des plaques de verre enduites d'huile ou de glycérine. HESSE (140), de son côté, avait proposé une modification en utilisant des tubes de verre aux parois recouvertes de gélatine.

Ces tubes, de 70 centimètres de long, sont placés horizontalement, l'air aspiré lentement à une extrémité permettait aux bactéries de sédimenter tout au long du tube.

On a reproché à la méthode par sédimentation la difficulté d'obtenir des résultats quantitatifs. On peut cependant utiliser la formule d'HARRINGTON (125) :

$$D = \frac{N}{t A \cdot Vg}$$

D = densité bactérienne dans l'atmosphère

N = nombre de colonies

t = temps de récolte

A = surface du milieu nutritif

Vg = vitesse de sédimentation de la particule.

On comprend les critiques de MAISONNET (190) qui souligne que cette méthode sélectionne les grosses particules, alors que les petites, plus riches en bactéries, ne sont que très imparfaitement prélevées, de même que les "droplet nuclei".

3.2.2. La centrifugation

Il s'agit d'une variante du procédé précédent puisqu'on va accélérer le processus de sédimentation en soumettant la particule à l'action de la force centrifuge.

La centrifugeuse de WELLS (296) est le premier appareil de ce type. L'air est mis en rotation dans un cylindre vertical, tournant à 4000 tours/mn. Les parois du cylindre sont recouvertes d'un film de gélose. Le débit d'air aspiré est de 30 à 50 l/min. PHELPS et BUCHBINDER (235) ont particulièrement étudié les performances de cet appareillage. Ils admettent un rendement de 100 % pour des particules de 2 à 3 μ , de 50 % pour les particules de 0,77 μ mais seulement de 33 % pour les simples noyaux de condensation. Cet appareil fut utilisé par LURIE (182) dans la recherche de la contamination aérienne par le BK.

L' "Agar Trommel Ventilator" est un appareil basé sur le même principe qui fut utilisé par NEERING (219) dans ses études sur l'air marin. L'air à analyser est mis en rotation par un dispositif fixe et projeté directement sur le milieu de culture déposé sur un tambour tournant (1000-2000 trs/min). Son débit maximum est de 20 l/min, la durée du prélèvement étant limitée à 15 min.

On peut également signaler le "conifuge" de SAWYER (254) formé de deux cônes concentriques entre lesquels arrive l'air avec un débit excessivement faible (25 ml/min). Le recueil des particules sur des lamelles de verre permet une étude de la répartition granulométrique des poussières.

Plus fréquemment utilisés, les cyclones sont basés sur un principe un peu analogue : l'air est "centrifugé" par un aubage de mise en rotation. Les particules sont projetées sur les parois avec une force proportionnelle à leur rayon. Il n'existe pas de théorie satisfaisante sur les cyclones, mais

les analyses expérimentales ont permis d'en évaluer le rendement :

- 50 % pour les particules de $0,85 \mu$ de diamètre (LAPPLE -165-).
- 100 % pour les particules de $2,2 \mu$ (DAVIES -62-).

Ces appareils sont surtout utilisés comme dépoussiéreurs industriels ; on a amélioré leur rendement en ajoutant à la simple rotation de l'air, un courant d'eau qui "lave" les parois du cyclone (STAIRMAND -268- FAIRS -84- ERRINGTON et POWELL -83-).

De même DECKER et coll. (65) ont proposé un appareillage concentrant les particules contenues dans 750 litres d'air dans 1 ml d'eau.

LIPPMANN et CHAN (178) ont étudié les performances des cyclones commerciaux. Ils mettent l'accent sur la difficulté d'obtenir des appareillages aux caractéristiques parfaitement standardisées. Ils ont également pu calculer que l'efficacité du piégeage est fonction de la concentration en poussières.

Récemment BLACHMAN et LIPPMAN (20) ont proposé un multicyclone constitué de 7 cyclones en série reliés à une arrivée commune. De plus, la vitesse d'aspiration, différente pour chaque cyclone, permet une analyse granulométrique des constituants atmosphériques.

D'une conception similaire sont les "laveurs à venturi" où le dépoussiérage de l'air s'effectue grâce à un microbrouillard d'eau. L'avantage de ce type d'appareil est de collecter les particules les plus fines. De plus il est peu onéreux.

Les études théoriques sur leur efficacité sont basées sur la taille moyenne des gouttelettes calculée selon la formule de NUKIYAMA-TANASAWA. Grâce à ce principe, BOLL (23) a pu étudier les performances de certains cyclones. Il en conclut que la distribution de taille est beaucoup moins uniforme qu'on ne pouvait le supposer. Cette hétérogénéité aurait pour conséquence une surestimation du rendement de ces appareillages.

On peut rapprocher de ces appareils, ceux qui font appel à la turbulence homogène par rotation concentrique (LEITH -171-).

Ils sont basés sur les mouvements de COVETTE-TAYLOR imposés aux liquides soumis à des forces de centrifugation. Dans ce type d'appareils, les particules restent dans le dispositif épurateur en moyenne 5 fois plus longtemps que dans le dispositif à venturi.

MAY et HARPER (210) ont souligné que les bactéries, en particulier les gram négatif, étaient particulièrement traumatisées dans les cyclones dont l'efficacité est conditionnée par une vitesse d'aspiration très importante.

3.2.3. La filtration

Contemporaine de la méthode par sédimentation, les méthodes de filtration furent préconisées par PASTEUR dès 1860 (227).

3.2.3.1. *Principes physiques*

Le mécanisme de la filtration fait intervenir deux opérations successives : l'une assurant la séparation air/poussières, l'autre la rétention des particules.

Séparation : Elle s'effectue sous l'action combinée de différents phénomènes :

- le tamisage des particules plus grosses que les interstices du filtre.
- la sédimentation des particules se déposant par gravité sur les fibres.
- l'interception directe des particules.
- des effets électrostatiques mal définis.

Rétention : La particule amenée au contact d'une fibre, va être soumise à deux types de forces :

- une force de sollicitation aérodynamique dans la veine fluide tendant à la remise en suspension dans l'air de la particule.
- une force de rétention qui peut, à son tour, se subdiviser en tension superficielle, fonction de l'hydratation des fibres et des forces

électrostatiques, sans oublier les forces d'attraction moléculaire (forces de VAN DER WAALS).

Physiquement, chaque type de milieu filtrant est caractérisé par :

- le diamètre ou la dimension de l'élément de base
- sa densité.

Cependant, en aérobiologie, on préfère une classification empirique des méthodes :

- filtration sur bourres insolubles
- filtration sur bourres solubles
- filtration sur membrane filtrante.

3.2.3.2. *Filtration sur bourres insolubles*

Ces substances ont été peu utilisées. FRANKLAND (95) par exemple filtre l'air sur laine de verre, méthode reprise en 1966 par NASHAM (218) qui arrive à prélever des bactériophages aérosolisés en caisson.

PETRI (234) utilise un tube rempli de sable. Ce dernier est ensuite mélangé à de la gélose et l'ensemble, coulé en boîtes, mis à incuber.

Plus récemment GROSCLAUDE et HERMIER (112) ont utilisé comme substance d'arrêt, de très petites billes de verre dont les capacités d'adsorption sont bien connues. Puis les billes sont agitées dans un milieu liquide, lequel est ensemencé ensuite.

Une variante de cette méthode a été utilisée par GUYTON (118) qui aspire l'air à travers un coton absorbant ; celui-ci est ensuite agité dans 100 ml de bouillon et mis à incuber. Cette méthode n'est considérée comme valable qu'à des concentrations bactériennes importantes. Elle est, par contre, d'une mise en oeuvre aisée et peu onéreuse.

GUYTON a également proposé d'utiliser un masque respiratoire dans lequel est inséré une cartouche de coton absorbant.

3.2.3.3. *Filtration sur bourres solubles*

Dès 1861, PASTEUR utilise des bourres filtrantes en coton, silicates solubles. Après passage d'un certain volume d'air, la bourre est retirée du tube de verre où elle était placée ; puis après sa dissolution, le mélange obtenu est examiné au microscope.

Quelques années plus tard, MIQUEL (212) utilise des cristaux de sulfate de soude anhydre, substance reprise en 1965 par BOIZIS (21) pour étudier la pollution bactériologique de l'air de Marseille.

D'autres substances ont été utilisées :

- L'alginate de sodium, hydrosoluble
(RICHARDS -246- VERCHIGORA -278-).
- L'alginate d'ammonium (HAMMOND -423-).

Le milieu filtrant est secondairement solubilisé dans un tampon phosphate qui sert ensuite à préparer le milieu de culture gélosé.

Des mousses liquides ont été proposées par SINEL'NIKOVA (264) et par REMY (244). La substance filtrante est constituée par les bulles de mousse obtenues en faisant passer un courant gazeux à travers un verre fritté sur lequel on a déposé une petite quantité de bouillon peptoné.

Des mousses de gélatine fortement comprimée ont été employées par MITCHELL (213) et RECHMENSKII - MITCHENKO (245). Les filtres sont pesés avant et après échantillonnage, puis sont dissous dans une solution tampon phosphate et le liquideensemencé sur milieux nutritifs.

Les études d'aérobiologie les plus importantes qui ont été réalisées à l'aide de cette méthode sont dues à TIMMONS (271).

GUYTON (119) reproche à ce matériel de présenter une forte résistance à l'air, ce qui provoque une lésion des cellules prélevées. NOLLER et SPENDLOVE (221) arrivent à des conclusions voisines.

MAIER (189), PETRAS (233), SCHRODER (257) et GUNDERMAN (117) ont pallié cette difficulté en utilisant des milieux à la gélatine sous forme de filtres.

ROTTER (252) décrit un appareillage à 12 têtes de filtration fonctionnant les unes après les autres. Le débit est de 2,7 litres d'air par minute, la vitesse de l'air de 41 m/sec au maximum. Les milieux filtrants peuvent être stérilisés par irradiation gamma. Ils sont solubles dans l'eau, le NaCl à 0,9 %, le NaCl à 0,9 % additionné d'un dispersant (Triton X 100) ou le bouillon nutritif ordinaire.

3.2.3.4. *Les membranes filtrantes*

C'est une technique très fréquemment utilisée, la seule qui mérite le terme de filtration. Dans les cas précédents, les particules bactériennes sont retenues soit par choc direct sur une fibre du milieu filtrant, soit par attraction électrostatique ; les mailles peuvent donc être beaucoup plus large que le diamètre moyen des particules. Les membranes filtrantes, par contre, jouent un véritable rôle de crible, le diamètre des pores étant inférieur à celui de la bactérie.

Les premières en aérobiologie ont été réalisées par RAZUMOV (242), PROCTOR (238), puis BESSON (19) en utilisant des papiers filtres de faible porosité.

Les méthodes diffèrent suivant :

- la structure du filtre (pores tortueux ou rectilignes),
- la nature de la membrane qui peut être en acétate ou nitrate de cellulose, en cellulose régénérée, en polyamide ou en fibre de verre (CORN et SANSONE -41-).

CLARK (39), FIRST (91), WINSLOW (301) ont mis en évidence l'aptitude de la méthode à recueillir les particules sans les modifier (absence de chocs générateurs de fragmentation secondaire), et de permettre une utilisation directe par application sur un milieu de culture. Par contre, cette méthode ne permet pas de mesurer des concentrations bactériennes élevées.

FIELDS et coll. (90) ont comparé les résultats obtenus par des prélèvements effectués avec un échantillonneur à fente et une rampe de filtration sur membrane. Ils ont pu constater que le nombre de bactéries recueillies sur filtre était inférieur à celui de l'incubateur de REYNIERS. Une des raisons invoquées est la remise en suspension de particules lors de l'arrachement de la membrane à son support, du fait des forces électrostatiques (GOETZ -104-).

Une nouvelle méthode a été proposée récemment ; il s'agit des filtres "nucléopore". Ce sont des membranes en polycarbonate, extrêmement fines et résistantes ($10\ \mu$ d'épaisseur).

Ces filtres présentent également l'avantage d'être transparents, donc observables directement sous le microscope et de pouvoir être réutilisés après lavage. Le diamètre des pores peut varier de $0,1$ à $8\ \mu$. SPURNY, HAVLOVA et WILDER (267) ont étudié, plus particulièrement, l'effet de colmatage de ces filtres et concluent que celui-ci est faible, le mécanisme principal de rétention étant dû aux effets de choc.

Ces membranes filtrantes doivent être utilisées sur des supports, le plus souvent à grande ouverture (openfield), l'orifice d'entrée étant d'un diamètre sensiblement équivalent à celui de la membrane.

Signalons enfin un certain nombre d'appareillages, moins conventionnels, comme le masque de DAVIDS (61), qui utilise comme source de dépression les mouvements inspiratoires du sujet. L'auteur préconise comme substance d'arrêt un filtre en acétate de cellulose contenant une armature de fibres de verre et de rayonne.

SILVERMAN (263) a décrit un appareil, repris par CHAMBERS (37) pouvant aspirer $1400\ \text{l/min}$ à travers une membrane filtrante en fibre de verre. Le filtre est repris par de l'eau et le liquide d'élution permet de pratiquer des ensemencements bactériologiques. Ce type d'appareillage⁺ que nous avons personnellement essayé présente cependant un assez grand nombre de désavantages.

⁺ STAPLEX.

Primitivement conçu pour l'analyse de poussières atmosphériques il peut donner des résultats intéressants à condition de pratiquer des échantillonnages brefs. En effet, on s'aperçoit que lorsque la concentration en poussières est élevée, la perte de charge entraînée par le colmatage du filtre ne permet plus une évaluation quantitative exacte. De plus, il est très difficile de remettre en suspension les particules adsorbées sur le filtre même après ultrasons. Une dernière critique a été avancée par COUNTESS (42) qui a mis en évidence la production d'aérosols de particules de carbone par usure des charbons du moteur de l'appareil.

Enfin, HEMEON (136) a proposé une méthode de prélèvement automatique sur un ruban filtrant en fibre de verre. Toutes les 30 minutes, 300 litres d'air sont aspirés, le ruban avance dans un magasin de stockage et un nouveau prélèvement est effectué.

Les méthodes par filtration sont malgré tout des méthodes très employées du fait de leur simplicité et de leur faible coût de mise en oeuvre.

3.2.3.5. *Traitement secondaire des filtres*

Deux types de méthodes ont été préconisées :

- soit l'extraction par agitation ou traitement des filtres par ultrasons dans un milieu liquide stérile qui est ensuiteensemencé.

- soit la méthode préconisée par TORLONI en 1958 (272) de culture sur filtre.

D'autres méthodes font appel à la visualisation des germes eux mêmes après coloration à la fuschine diluée (ECKER et LOCKHART -79-). De même, RICHARDS (247) colore les microcolonies apparues après un temps très court d'incubation.

Cette technique fut améliorée par GERMAN (102) qui utilise une coloration vitale au chlorure de triphenyl - 2.3.5. - tétrazolium, réactif de l'activité deshydrogénasique des micro organismes.

3.2.4. Prélèvement par barbotage

Le principe de la méthode par barbotage consiste à faire passer l'air à analyser à travers un liquide collecteur où il va abandonner les particules en suspension. La méthode sera d'autant plus efficace que les bulles créées par le courant gazeux seront plus fines.

Le précurseur de cette méthode est également PASTEUR qui utilisa des ballons remplis de milieu nutritif stérile et munis d'une longue effilure. Ces ballons sont scellés après application d'une certaine dépression. Lors de la remise en contact avec l'air ambiant on obtient une culture dans un nombre de ballons plus ou moins important, selon le degré de contamination atmosphérique.

CHRISTIANI (57) et POMPEANI (236) utilisent des variantes de cette méthode.

Elle est ensuite délaissée jusqu'en 1941 où WHEELER-FOLEY (298) présente un barboteur avec un débit d'aspiration relativement élevé (3,6 à 9 l/mn) afin de permettre la formation de bulles qui sont ensuite brisées par un lit de billes de verre.

HOULTON et PUCK (216) décrivent un appareil où l'air est mis en contact avec le liquide collecteur par l'intermédiaire d'une trompe à eau. Il se forme un aérosol de gouttelettes d'eau qui adsorbe les particules en suspension. Il faut tenir compte, dans cet appareillage, d'une importante perte de liquide par évaporation.

LEMON (173) a proposé d'utiliser un "bulleur" de Folin, autrement dit une ampoule de verre percée de 6 orifices par lesquels l'air arrive dans un liquide additionné d'antimousse. Une méthode encore plus simple est celle de l'échantillonneur à seringue de SETTERLIND (259) : une seringue de 100 ml contenant 20 ml de liquide permet d'aspirer 50 ml d'air. On agite une minute et on ensemence le liquide. Cette méthode n'est valable que pour des concentrations en bactéries très élevées.

HERMANN (137) utilise un barboteur, contenant une solution tampon, placé dans un bain-marie à 37° C. Le débit de l'appareil est de 4 litres par

minute et le prélèvement dure 30 minutes ; le liquide est ensuite filtré sur membrane.

L'intérêt de la méthode par barbotage réside dans diverses réalisations :

- les premières, que nous envisagerons plus loin, sont les méthodes de récolte par choc en milieu liquide.

- les secondes, sont les "laveurs" où un brouillard liquide permet de capter les particules en suspension dans l'air. JONES (150) puis MAGILL (188) ont décrit des appareils de ce type ayant des débits d'aspiration importants (715.850 l/minute).

De même, BUCHANAN (30) a proposé un laveur dont le débit est de 940 l/minute. Un fin brouillard liquide collecte les particules puis se condense sur les parois.

C'est également à ces principes que répondent les collecteurs mis au point au C.R.S.S.A. et que nous utiliserons pour notre travail.

3.2.5. Prélèvement par choc

Il s'agit de méthodes de prélèvements qui sont des améliorations des techniques de barbotage. Cette méthode consiste à projeter l'air, contenant des particules à grande vitesse sur un obstacle où les microconstituants seront déposés.

Selon le type de la surface d'arrêt, nous pouvons distinguer deux types d'appareils :

- ceux qui utilisent une surface solide ("impacteurs")
- ceux qui utilisent une surface liquide ("impingers").

3.2.5.1. *Choc en milieu solide*

On peut faire remonter ce type d'appareillage à l'aéroscope, décrit par POUCHET en 1859. Celui-ci est formé d'un tube contenant, perpendiculairement à son axe, une lame de verre enduite d'un liquide visqueux ; l'air

aspiré par une pompe abandonne ses particules sur cette lame.

Très proche de ce dispositif, l'aéroconisque de MADDOX (187) est constitué d'un cône permettant l'arrivée du flux d'air ensuite dirigé sur une lame de verre gélatinée. CUNNINGHAM (58) utilise cet appareil en ajoutant une girouette qui oriente l'orifice d'aspiration face au vent.

Enfin MIQUEL (212) le modifie à son tour en confectionnant un appareillage formé d'un corps métallique percé d'une très petite ouverture sous laquelle est placée une lamelle gélatinée. La dépression nécessaire est fournie par une trompe à vide.

Les impacteurs sont, de nos jours, parmi les appareils les plus connus et les plus utilisés, principalement dans les pays anglo-saxons. Nous pouvons les diviser en 4 sous-groupes :

- . impacteurs à entonnoir
- . impacteurs à fente
- . impacteurs à crible
- . impacteurs à tige tournante.

3.2.5.1.1. *Appareils à entonnoir*

+ + + + + + + + + +

Le principe en fut imaginé en 1939 par HOLLAENDER et DELLAVALLE (142). Il s'agit d'une nouvelle modification de l'appareil de MADDOX. Le débit est de 28 litres par minute. L'inconvénient de cet appareil est de ne recueillir que les grosses particules.

En 1975, un appareil de ce type a été réalisé par la N.A.S.A. pour les études de confinement lors des missions SKYLAB. Le débit de cet appareil est de $0,2 \text{ m}^3/\text{minute}$ (BROCKETT - FERGUSON -27-).

3.2.5.1.2. *Collecteurs à fente*

+ + + + + + + + + +

En 1941, BOURDILLON (25) propose l'appareil suivant : l'air à analyser est aspiré à travers une mince fente et vient frapper une boîte de PETRI animée d'un mouvement de rotation. L'axe de la fente correspond à un

rayon de la boîte de PETRI. La vitesse de rotation, de 30 secondes, 2 ou 5 minutes, permet un échantillonnage plus ou moins important, l'air étant toujours aspiré à raison de 28 litres par minute. Cet appareillage a été modifié pour l'étude des atmosphères peu polluées (moins de 50 000 bactéries /m³). Il comprend alors 4 fentes et 4 boîtes de PETRI ; l'air est aspiré à raison de 700 litres par minute. (BOURDILLON et LIDWELL -26-).

En 1946, LUCKIESH, TAYLOR et HOLLADAY (180) proposent un collecteur à jet latéral : l'air pénètre dans un tambour de métal où les grosses particules vont se désagréger, et, est ensuite projeté à grande vitesse (30 m/sec) à travers une fente latérale sur une boîte de PETRI tournante.

Puis de nombreux auteurs décrivent un appareil basé sur ce principe. Citons KROTOV (157) en 1953 et GOLBERG (106) en 1958. Nous nous attarderons un peu plus sur l'appareil d'ANDERSEN (2) : un tambour, recouvert de gélose tourne grâce à un mouvement d'horlogerie, face à un jet d'air ; lorsque le cylindre a effectué un tour complet il descend de 3 millimètres et on a ainsi la possibilité d'avoir des prélèvements de durée variant de 28 minutes à 28 heures. Le débit d'air est de 0,5 à 3 litres par minute.

Par ailleurs, on doit noter la possibilité de remplacer la fente par une buse circulaire qui, pour RANZ et WONG (241) a un meilleur rendement.

Un des derniers appareils décrits est celui de TILAK et KULKARNI (270). Ces auteurs utilisent un jet d'air projeté sur une feuille de cellophane fixée à la circonférence d'un disque rotatif. La feuille est enduite d'un mélange de glycérine et de vaseline.

L'inconvénient théorique de ces appareils est de ne pas donner d'indications quant à la granulométrie des particules recueillies, sauf peut-être l'appareil de LIDWELL (174).

3.2.5.1.3. *Les collecteurs à crible*

+ + + + + + + + + + + +

Dans l'appareillage de DUBUY et CRISP (78), l'air est aspiré à raison de 28 litres par minute à travers un crible de 800 trous placé au dessus d'une boîte de PETRI. Pour une vitesse de l'air donnée, la surface

totale de section, par conséquent la surface totale de collecte, augmente avec la racine cubique du nombre de colonies confluentes, puisque pour un nombre donné de germes on a une surface de recueil plus importante. De plus, la vitesse de l'air est plus faible donc moins traumatisante pour les bactéries et la surface gélosée de recueil. Par ailleurs, la diminution de pression à travers les orifices varie comme la puissance $2/3$ du nombre de trous. Cela permet d'utiliser des pompes à vide plus faibles, pour obtenir, malgré tout, des volumes d'aspiration importants.

Sur ce principe ANDERSEN (1) a conçu un appareil destiné à l'aérobiologie. Il s'agit d'une série de 6 cribles de calibres décroissants déposés chacun au-dessus d'une boîte de PETRI contenant un milieu nutritif.

Les particules se déposent sur les différents étages en fonction du diamètre des orifices des cribles.

L'appareil d'ANDERSEN a subi de nombreuses modifications, dues notamment à MAY (204) pour aboutir, finalement à deux appareils : le "Pagode" et le "MCS" (Modified Cascad Sieve) (206). Les caractéristiques du premier sont donnés dans le tableau IX, le deuxième, beaucoup plus simple ne comporte de crible qu'au niveau du 3ème étage.

TABLEAU IX : Caractéristiques de l'appareil Pagode
(MAY) (206).

| | Ø de
coupure
aérodyna-
mique | Vitesse de
sédimentation | Ø
orifice
(en cm) | Nbre
ori-
fices | Boîte
de
Pétri
Ø cm | Nbre
maximum
de
colonies |
|----------------|---------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 1er étage (1) | 18 μ | .1 cm/sec | 6 | 1 | 9 | 500 |
| 2ème étage (2) | 18 à
5 μ | 1 à 0,1 cm/sec | 0,545 | 100 | 14 | 4 000 |
| 3ème étage (3) | 5 à
1 μ | 0,1 à 0,04
cm/sec | 0,120 | 400 | 14 | 2 000 |

- (1) particules à grande vitesse de sédimentation représentant les causes d'infection dans le cas de plaies ouvertes
- (2) Particules pouvant rester longtemps dans l'atmosphère, inhalables, certaines restant dans les parties hautes du tractus respiratoire.
- (3) Particules inhalables et transportables à longue distance.

HARRINGTON et coll. (125), en 1959, signalent l'utilisation de tels systèmes, en particulier en aéro-palynologie :

- le "flag sampler" constitué par un ruban adhésif tournant autour d'un axe. Il s'agit d'un appareillage peu coûteux mais inefficace pour capter les fines particules.

- le "roto-bar sampler" qui est une modification du système de PERKINS permettant un travail en extérieur.

En 1967, KVITTINGEN et MAUSETH (160) montrent que l'appareil de PERKINS a un mauvais rendement pour les particules fines : 80 % pour les particules de $10\ \mu$ et au dessus, mais 55 % seulement pour celles de $6\ \mu$.

3.2.5.2. *Choc en milieu liquide*

Ce sont des appareils basés sur le principe des dépoussiéreurs de GREENBURG et SMITH (109). On accélère la vitesse du courant gazeux, par utilisation de tubes capillaires, et on le fait arriver sur une surface liquide où il abandonne ses particules.

Il existe en fait deux catégories d'appareils :

1) La première correspond exactement à cette définition.

2) Dans la deuxième, le flux d'air arrive sous la surface du liquide. Cette technique s'apparente un peu au barbotage mais la vitesse du courant gazeux est bien plus élevée.

Les germes ou amas de germes dissociés sous l'action du choc, sont recueillis dans le liquide, qui peut être un milieu nutritif, puis ensemencé soit directement, soit après filtration sur membrane.

Dans la pratique les bulles doivent être les plus fines et les plus régulières possibles. Cela est réalisable en jouant sur la section du tube capillaire terminal qui joue le rôle de régulateur de débit (ROSEBURY -250-).

En 1957, COWN et coll. (43) soulignent l'importance de la notion "d'orifice critique". Son calcul est basé sur "la pression critique" (rapport entre les pressions en aval et en amont de l'orifice nécessaire pour amener le flux d'air à une vitesse sonique. Ce rapport varie selon les fluides (pour l'air il est de 0,53). Par exemple, en travaillant à la pression atmosphérique il faut appliquer une dépression de 402 mm de mercure si on veut conserver des débits intéressants, d'où l'emploi de pompes à vide puissantes.

Le calcul du diamètre du capillaire est donné, quant à lui, par la formule :

$$Q = 9. d^2$$

où Q = débit d'air

d = diamètre du capillaire.

Ainsi un orifice de 0,33 mm possède un débit de 1 litre par minute à vitesse sonique.

Nous allons présenter maintenant les appareils les plus courants et les plus utilisés + :

3.2.5.2.1. *Impinger de GREENBURG-SMITH* (109) + + + + + + + + + + + + + + +

Il combine impact en milieu solide et liquide : l'air arrive par un capillaire à 5 mm d'une plaque de verre située dans une solution.

3.2.5.2.2. *"All glass impinger"* (A.G.I.) CONN (43) + + + + + + + + + + + + + + +

Ces appareils sont dérivés du précédent : le capillaire est relié à l'extérieur par un tube de verre coudé. Deux types ont été proposés :

1. L'orifice du capillaire arrive à 5 mm du fond du flacon, sous la surface du liquide.

+
Nous avons gardé à ces appareils leur dénomination anglo-saxonne qui est universellement employée.

2. L'orifice est situé à 30 mm du fond du flacon et au dessus de la surface du liquide de recueil (A.G.I. 30).

L'expérience a montré que le dernier procédé possède un meilleur rendement. On peut les utiliser avec un "pré-impinger". (MAY- (207)). Il s'agit d'un dispositif sphérique placé à l'extrémité du tube d'un A.G.I. Cela entraîne une séparation des particules selon leur taille (les particules supérieures à 5 μ sont retenues dans le "pré-impinger").

3.2.5.2.3. *Impinger capillaire* (ROSEBURY -250-). + + + + + + + + + +

Il est constitué d'un tube se terminant par un court capillaire de fin diamètre. Le tube est placé dans un Erlenmeyer de manière à être situé à 4 mm du fond sous la surface liquidienne.

3.2.5.2.4. *Impinger à jet tangentiel* + + + + + + + + + + + + +

(Modèle SHIPE-TYLER) (262). L'orifice critique est formé d'un tube métallique arrivant au bas du flacon en faisant un angle de 20° avec la surface.

3.2.5.2.5. *"Midget Impinger"* + + + + + + + +

Conçu surtout pour des concentrations élevées, cet appareil prélève de faibles quantités d'air par un orifiece de 1 mm de diamètre et ne travaille pas en orifice critique. LITTLEFIELD (179). SCHRENK (256).

3.2.5.2.6. *Impinger à membrane filtrante.* + + + + + + + + + + + + + +

Il s'agit d'un impinger de conception classique, mais, après recueil des germes, un dispositif de filtration permet la récupération des bactéries sur une membrane filtrante. HALL (120).

3.2.5.2.7. *Impinger de JONES* (150).

+++++

Cet auteur a proposé un appareillage dérivé des épurateurs industriels et combine choc en milieu liquide et dépoussiérage par voie humide dans un venturi. Il en existe deux modèles, différent par leur débit.

3.2.5.2.8. *Impinger à étages multiples*

+++++

Cet appareillage proposé en 1966, se compose de deux étages de capture en milieu liquide à vitesse sonique et d'un étage utilisant un impact en milieu solide. Etudié comparativement avec l'appareil de MALLIGO, par CARSON (167), il s'avère d'un rendement supérieur.

3.2.6. La précipitation électrostatique

Ce procédé couramment utilisé dans les dépoussiéreurs industriels a été proposé en 1941 par BERRY (18) pour l'analyse bactériologique de l'air. Les bactéries chargées positivement ou négativement sont captées par deux boîtes de PETRI situées sur des électrodes de signe contraire. Les bactéries non chargées se déposent théoriquement de manière égale sur les deux électrodes.

LUCKIESH, TAYLOR et KNOWLES (181) décrivent, par la suite, le "General Electric Electrostatic Air Sampler". La tension appliquée sur les deux électrodes est de 7000 volts, chaque boîte de PETRI est surmontée d'un cône renversé par lequel l'air est aspiré avec un débit de 14 litre/minute.

GREGORY (3) a montré que bien qu'il y ait autant de bactéries chargées positivement ou négativement, l'électrode négative recevait 30 % de bactéries de plus que l'électrode positive.

MAISONNET (190) a proposé avec son "hydroaéroscope" un dispositif de prélèvement par voie électrostatique. Les buts de cet appareillage sont :

- dissocier les amas bactériens
- obtenir une étude quantitative

- permettre une culture directe sur milieu solide
- permettre la récolte des virus atmosphériques.

Le tout est réalisé avec un appareillage aisément stérilisable, robuste, maniable et portatif.

Dans cet appareil, l'air arrive par un crible de 200 trous de 0,8 mm de diamètre sur une première boîte de PETRI reliée à une électrode de potentiel nul. La veine gazeuse est ensuite dirigée vers une deuxième boîte de PETRI connectée à une électrode portée à un potentiel élevé (7000 volts). L'air est ensuite épuisé définitivement dans un impinger où l'on peut rechercher les virus atmosphériques.

D'un excellent rendement à haute tension, il ne peut cependant être utilisé lorsque l'hygrométrie dépasse 85 % par suite de l'apparition de phénomènes d'arcs électriques et d'ozonation de la veine gazeuse. Le débit de cet appareil est malgré tout relativement faible (5 litres minute).

En 1966, GERONE (103) décrit un appareil à débit élevé ($10 \text{ m}^3/\text{minute}$) Les particules sont recueillies sur un mince film de glycérine placé sur un disque tournant et constamment renouvelé. Le disque est électriquement chargé du signe opposé à celui des électrodes placées à l'entrée du courant gazeux.

O'CONNEL et WIGGINS (222) ont proposé un système d'une extrême simplicité. Une baguette en plastique stérile, est chargée électrostatiquement par frottement. Elle est ensuite exposée à l'air durant quelques minutes. L'ensemencement se fait soit en milieu liquide par simple agitation, soit en la roulant sur une boîte de PETRI.

Le problème reste cependant, celui de connaître le comportement des bactéries dans un champ électrique. Nous avons vu que nos connaissances sur ce sujet sont encore fragmentaires.

FONTANGES et JOUBERT (94) ont étudié la sédimentation des bactéries dans un champ ionisé. Ils ont montré que les trajets de sédimentation sont déterminés par la charge acquise par les microorganismes sous l'effet de bombardement ionique et de la diffusion thermique des ions. Ces trajets dépendent de la taille des particules mais également de leur forme. La viabi-

lité des germes paraît souvent affectée dans ce type d'appareillage. En effet, les germes sphériques résistent mieux que les formes bacillaires et les espèces pigmentées mieux que les espèces incolores.

3.2.7. La précipitation thermique.

Cette méthode est une application des phénomènes décrits par WATSON (281) qui a montré qu'un corps chaud, placé dans une atmosphère riche en poussière produit un espace vierge de toute poussière autour de lui.

Un appareil fut décrit par ROSENBLATT (251) puis par KETHLEY et ORR (154) dans lequel l'air passe entre deux surfaces, l'une refroidie (20°C), l'autre chauffée à $80-100^{\circ}\text{C}$. Les particules se déposent sur la surface refroidie. Le débit de cet appareil est faible ($0,4\text{ l/minute}$).

Le "Thermopositor" de ORR et GORDON (224) a un débit comparable avec $0,3\text{ l/minute}$. L'humidité est contrôlée dans l'enceinte mais le dessèchement limite, malgré tout, la durée de l'échantillonnage à 5 minutes. ORR et GORDON trouvent des résultats supérieurs à un AGI 30 avec leur appareil.

Une variante de ces systèmes consiste à utiliser la thermophorèse (HASENCLEVER -129-).

Dans une tête de mesure finement percée ($0,1\text{ mm}$) est tendu en son centre un fil métallique chauffé. Il s'établit entre les parois et le fil un important gradient thermique. Les particules arrivant dans ce champ vont migrer vers la paroi froide avec une vitesse fonction du gradient. Les parois du canal sont constituées de petits pistons amovibles supportant des lamelles porte-objet qui peuvent être examinés ultérieurement. Ces appareils ont des débits extrêmement faibles ($4\text{ à }10\text{ ml/minute}$).

3.2.8. Prélèvements par interception

Cette méthode très efficace est d'une mise en oeuvre particulièrement délicate. Il s'agit d'intercepter les bactéries atmosphériques au moyen d'un réseau de fils de diamètre égal ou inférieur à celui des particules à piéger.

Les fils employés sont en verre, en soie, en métal ou, le plus souvent, des fils d'araignée (DESSENS -69-). Le réseau est monté sur un cadre tournant. MAY et DRUETT (208) ont également utilisé cette méthode en montrant que les fils d'araignée, remarquablement résistants, pouvaient supporter des courants de 32 km/h. En fait cette méthode a surtout été utilisée pour l'étude de la survie des bactéries aérosolisées, en fonction des conditions d'environnement.

Nous avons résumé dans les tableaux X à XV, les caractéristiques des principaux appareillages qui ont été décrits. Mais, d'ores et déjà, nous ne pouvons que remarquer l'extraordinaire diversité de ces méthodes. Cette constatation rend illusoire toute comparaison entre les résultats obtenus.

T A B L E A U N° X
=====

PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES METHODES DE PRELEVEMENT

PAR SEDIMENTATION ET CENTRIFUGATION

| AUTEURS | ANNEE
REF. | DEBIT
(L/min) | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|---------------------|---------------|------------------|---|---|
| MIQUEL | 1888
(211) | ? | Sédimentation sur des surfaces recouvertes de substances adhésives | Méthode peu onéreuse mais ne permettant pas une évaluation quantitative. |
| HESSE | 1888
(140) | ? | Sédimentation dans un tube de verre aux parois enduites de gélatine | Idem. |
| WELLS | 1933
(296) | 30 - 50 | Centrifugation et recueil sur un film de gélose. | Rendement de 100 % pour des particules supérieures à 2-3 μ |
| SAWYER
WALTON | 1950 | 25 ml/min | Conifuge : étude granulométrique sur des lamelles de verre | Débit extrêmement faible |
| ERRINGTON
POWELL | 1969
(83) | 75
350 | Cyclones avec concentration des particules dans le liquide. | Rapport de concentration favorable |
| DECKER
BUCHANAN | 1969
(65) | 750 | Cyclone avec concentration dans le liquide | Action traumatisante pour les germes en particulier les Gram - |
| NEERING | 1971 | 20 | "Agar Trommel Ventilator". Centrifugation de l'air et recueil sur film de gélose. | Période de récolte limitée à 15 minutes. |
| LIPPMAN
CHAN | 1974
(178) | 430
75 | Comparaison de l'Aerotec 2 et de l'UNICO 240 (cyclones à concentration liquide) | Difficulté d'obtenir une reproductibilité convenable avec les appareils commerciaux |
| BLACHMAN
LIPPMAN | 1974
(20) | 0,9 à 30 | Cyclones en parallèle. Filtration secondaire. | Les 7 cyclones ayant un diamètre de coupure différent permettent une étude granulométrique. |

T A B L E A U N° XI
=====

CARACTERISTIQUES DES METHODES DE PRELEVEMENT PAR FILTRATION

| AUTEURS | ANNEE
REF. | DEBIT | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|-----------------------|---------------|------------------------|--|--|
| PASTEUR | 1861
(227) | Variable
(V) | Bourres de coton solubles | |
| FRANKLAND | 1887
(95) | V | Laine de verre | |
| MIQUEL | 1888
(212) | V | Sulfate de soude anhydre | |
| PETRI | 1888
(234) | V | Sable | |
| SILVERMAN | 1948
(263) | 1400 l/min | Membrane en fibres de verre | Difficulté d'une étude bactériologique secondaire. |
| HEMEON | 1953
(136) | 3 l/min | Ruban filtrant | Dispositif automatique |
| MITCHELL | 1954
(213) | V | Mousse de gélatine comprimée. | Non commercialisé |
| GUYTON | 1956
(118) | V | Coton absorbant | |
| RICHARDS | 1955
(246) | V | Alginate de sodium | |
| HAMMOND | 1958
(123) | V | Alginate d'ammonium | |
| GROSCLAUDE
HERMIER | 1961
(112) | V | Billes de verre de très petite taille. | |
| SINEL'
NIKOVA | 1963
(264) | V | Mousses liquides | |
| NASHAM | 1966
(218) | V | Laine de verre | |
| MAIER | 1965
(189) | 100 l/min
au maxim. | Filtres en gélatine | Bonne solubilité dans divers solvants. |
| PETRAS | 1966
(233) | Idem | Idem | |

| AUTEURS | ANNEE
REF. | DEBIT | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|-------------------|---------------|----------|---|--|
| GUNDERMAN | 1974
(117) | Idem | Idem | |
| ROTTER | 1973
(252) | Idem | Idem | Utilisation de plusieurs filtres en série. |
| SPURNY
HAVLOVA | 1974
(267) | V | Filtres nuclépores | Membrane bidimensionnelle. |
| DAVIDS | 1973
(61) | 10 l/min | Filtre en acétate de cellulose et laine de verre. | Le sujet, en inhalant, fournit la dépression nécessaire. Evaluation de la quantité "physiologique" de particules inhalées. |

N.B. Dans le cas des processus de filtration, le débit est essentiellement fonction de la source de dépression sauf exception (limitation de la membrane ou dispositif particulier).

T A B L E A U N° XII

=====

CARACTERISTIQUES DES METHODES DE PRELEVEMENT PARBARBOTAGE

| AUTEURS | ANNEE
REF. | DÉBIT | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|-----------------|---------------|-------------|--|---|
| WHEELER | 1941
(158) | 7,4-9 l/min | Formation de bulles qui
sont, secondairement
absorbées sur des filles
de verre. | Récueil en milieu
stérilisé. |
| LEWIS | 1943
(159) | 15,3 | Bulleux de verre | Récueil sur milieu
stérilisé. |
| JONES | 1944
(160) | 450 l/min | Venturi avec adsorption
de liquide de
récueil | Milieu stérilisé. |
| MAGILL | 1950
(161) | 850 l/min | Idem | Idem |
| SETTER-
LIND | 1953
(162) | 50 ml | Échantillonneur à
siphonage | Méthode réservée à
de très fortes
concentrations. |
| HEWALD | 1955
(163) | 4 l/min | Filtration technique
sur membrane | Solution tampon
utilisée comme
milieu de recueil. |
| SUCHANAN | 1971
(164) | 940 l/min | Aspirateur-laveur. | Récueil en eau
stérile. |

T A B L E A U N° XIII

=====

/

CARACTERISTIQUES DES METHODES DE PRELEVEMENT

PAR IMPACT EN MILIEU SOLIDE.

| AUTEURS | ANNEE
REF. | DEBIT | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|---------------------------------------|---------------|------------------------|--|--|
| <u>I. COLLECTEURS A FENTES</u> | | | | |
| HOLLAENDER
DELLA-
VALLE | 1939
(142) | 28 l/min | Collecteur à entonnoir | Rendement très faible pour les faibles diamètres. |
| BOURDILLON
LIDWELL | 1941
(25) | 28 l/min | Collecteur à fente | Etude des atmosphères relativement polluées |
| LUCKIESH
TAYLOR
HOLLADAY | 1946
(180) | 28 l/min | Collecteur à jet | Rendement de 95 % |
| BOURDILLON
LIDWELL | 1948
(26) | 700 l/min | Collecteur à fentes | Etudes des atmosphères peu polluées. |
| ANDERSEN | 1962
(2) | 0,5-3 l/min | Tambour tournant | Appareillage permettant des prélèvements sur une longue période. |
| TILAK
KULKARNI | 1970
(270) | 5 l/min | Tambour tournant recouvert d'une feuille de cellophane | Autonomie de 8 jours. |
| <u>II. COLLECTEURS A CRIBLES</u> | | | | |
| DUSUY
CRISP | 1944
(78) | 28 l/min | Collecteur à cribles | |
| ANDERSEN | 1958
(1) | 28 l/min | | Etudes granulométriques |
| MALLIGO
IDOINE | 1964
(196) | 28 l/min | Combinaison des méthodes par impact en milieu solide et en milieu liquide. | Permet une étude granulométrique par changement de la tête d'impact. |
| MAY | 1973
(206) | 28 l/min
1000 l/min | M.C.S.
PAGODE | Nécessité de recueillir les bactéries sur gélose recouverte d'O.E.D. |
| CARSON
PAULUS | 1974
(36) | 140 l/min. | Modifications de l'Andersen. | Etude granulométrique des poussières inhalables. |
| <u>III. APPAREIL A TIGE TOURNANTE</u> | | | | |
| PERKINS | 1957
(231) | 16 l/min | Appareil à impact sur tiges tournantes. | |

T A B L E A U N° XIV

=====

CARACTERISTIQUES DES METHODES DE PRELEVEMENT PAR IMPACTEN MILIEU LIQUIDE.

| AUTEURS | ANNÉE
REF. | DÉBIT | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|---------------------|---------------|------------------------------|--|--|
| GREENBURG-
SMITH | 1922
(109) | 28 l/min | Combine le choc en milieu
solide et en milieu
liquide. | Toutes les variantes
sont possibles en
ce qui concerne la
forme, le diamètre
du capillaire, le
milieu de recueil. |
| LITTLE
FIELD | 1937
(179) | 1,5-5 l/min | L'arrivée d'air ne tra-
vaille pas en orifice
critique | |
| ROSEBURY | 1947
(250) | 2-3 l/min | Impinger capillaire. | |
| JONES | 1949
(150) | 450-850
l/min
25 l/min | Combine le choc en
milieu liquide et
lavage dans un venturi. | |
| MAY | 1953
(207) | 12,5 | Pré-impinger | Permet une séparation
en deux classes gra-
nulométriques. |
| COWN | 1957
(43) | 6-12,5 l/min | A.G.I. 30 | |
| SHIPS | 1959
(262) | 10 l/min | Idem | |
| HALL | 1959
(120) | 28 l/min | Système de filtration
incorporé à l'impinger. | |
| JACKSON | 1974
(46) | 28 l/min | Couplage de deux impin-
gers (type Rosebury et
Greenburg Smith). | Rendement de 99 %
pour les faibles
diamètres. |

T A B L E A U N° XV
=====

CARACTERISTIQUES DES METHODES DE PRELEVEMENT
PAR PRECIPITATION ELECTROSTATIQUE ET THERMIQUE.

| AUTEURS | ANNEE
REF. | DEBIT | PRINCIPE | OBSERVATIONS |
|---|------------------------|------------|--|--------------|
| I. <u>PRECIPITATION ELECTROSTATIQUE</u> | | | | |
| LUCKIESH
TAYLOR
KNOWLES | 1949
(487)
(181) | 14 l/min | Electrostatic air sampler | |
| MAISONNET | 1955
(190) | 5 l/min | Hydroaéroscope | |
| GERONE | 1966
(103) | 1000 l/min | Disques chargés et en rotation. | |
| O'CONNEL | 1960
(222) | ? | Baguettes plastiques électrisées. | |
| II. <u>PRECIPITATION THERMIQUE</u> | | | | |
| ROSENBLATT | 1949
(251) | 0,4 l/min | Chauffage à 80-100 ° | |
| ORR.
GORDON | 1956
(224) | 0,3 l/min | Thermopositor avec chauffage à 125° C. | |

C H A P I T R E I V

LES MILIEUX DE RECUEIL ET DE DIAGNOSTIC
=====

4. LES MILIEUX DE RECUEIL ET DE DIAGNOSTIC.

=====

Le défaut de standardisation que nous avons souligné au niveau des appareils de prélèvement, se retrouve lorsqu'il s'agit de choisir le meilleur milieu pour ce même prélèvement. MIQUEL (211) avait déjà remarqué en 1888 qu'il était préférable d'utiliser la gélatine peptonée au bouillon peptoné. Nous distinguerons deux grands types de milieux :

- les milieux liquides,
- les milieux solides.

4.1. Milieux liquides.

De tels milieux sont nécessaires pour les techniques par impact en milieu liquide.

Ce peut être tout simplement de l'eau stérile ou du sérum physiologique. Dans notre collecteur à grand volume d'aspiration nous utilisons de l'eau déminéralisée stérile.

On peut d'ores et déjà penser que la méthode présente l'inconvénient de réhydrater brutalement des bactéries plus ou moins desséchées.

Mais l'utilisation d'eau déminéralisée stérile est rendue obligatoire pour pouvoir effectuer une étude chimique comparative des microconstituants inertes. De plus, afin d'éviter un traumatisme important aux bactéries nous pratiquons un ensemencement bactériologique rapide ; les bactéries en suspension dans l'eau ne sont soumises à son action toxique que durant des délais brefs, compatibles avec une survie convenable.

Les autres milieux liquides peuvent être des solutions nutritives, à base d'eau peptonée le plus souvent. Cette méthode déjà utilisée par MIQUEL (211) est actuellement très employée.

LARSON et DEMCHAK (167) utilisent différents milieux dans les "impingers" à étages multiples, selon la nature du germe qu'ils veulent étudier. C'est ainsi que pour *S. marcescens*, ils préconisent l'eau physiologique tamponnée, une solution de tampon phosphate gélatinée pour *E. Coli*, un tampon de Sörensen additionné de 20 % de jaune d'oeuf et d'antibiotiques pour l'étude des virus.

DRUETT (74) propose un milieu physiologique gélatiné et additionné de mannitol et d'antimousse pour les bactéries. HERMANN (137) utilise le tampon Sörensen à pH = 7 et ERRINGTON et POWELL (83) le tampon glycine à pH = 8,3. Ces auteurs ont également étudié l'action des tensio-actifs ajoutés au liquide de recueil. Ainsi l'utilisation du tergitol à 0,1 % entraîne dans le cas des cyclones une augmentation de rendement des 2/3 en ce qui concerne les spores de bacillus.

Il faut noter que l'emploi des solutions salines est discuté par de nombreux auteurs. Ainsi LEACH et SCOTT (168) ont montré l'influence néfaste des solutions salines dans la réhydratation des bactéries lyophilisées. RECORD (243) et ANDERSON et COX (4) pensent que la létalité, due à la formation de sphéropastes dans le milieu de récolte, peut être diminuée par l'adjonction de sucres.

4.2. Milieux solides.

4.2.1. Milieux de recueil

Les milieux utilisés pour les méthodes de sédimentation, de choc en milieu solide ou de précipitation électrostatique sont :

- des géloses nutritives glucosées (GUITERAS (116) CARRAZ (35).
- la gélose nutritive glucosée additionnée d'extrait de levure MAISONNET (190) - GREENE (110).
- la gélose nutritive glucosée additionnée de produits biologiques :
 - . sérum (WILLIAMS (299))
 - . sang de cheval (NOBLE et LIOWELL (220))

- la gélose nutritive peptonée (FAVERO (85)).

Mais il est certain que même en cas de prélèvement en milieu liquide, on doit utiliser des milieux solides pour effectuer la numération et l'identification des germes. Nous allons voir les principaux milieux qui ont été employés dans ce but.

4.2.2. Milieux de diagnostic d'orientation

De nombreux auteurs ont envisagé la possibilité d'étudier une souche donnée en utilisant des milieux sélectifs permettant une orientation plus rapide. C'est ainsi que WILLIAMS (299) utilise des géloses au sérum additionnées de phosphate et de rouge de phénol pour la recherche des germes à activités phosphatasiques. La recherche des staphylocoques par cette méthode est très répandue.

De même RANDAL et LEDBETTER (240) ont utilisé la gélose à l'éosine - bleu de méthylène en obtenant ainsi beaucoup plus d'Enterobactéries et de germe gram négatif (56 %) que sur une gélose ordinaire. Des milieux plus sélectifs ont également été proposés : ce sont des milieux additionnés d'antibiotiques.

ARTENSTEIN (7) isole *N. meningitidis* en utilisant 6 mg de lincomycine et 25 000 unités de polymyxine B par litre de milieu. HARRIS (126) utilise pour sa part, mais avec des résultats inconstants, un milieu additionné de 25 000 U de bacitracine, 6 000 U de polymyxine B et 100 mg/l d'actidione. D'une manière générale, nous pouvons dire que la polymyxine B à la concentration de 1 à 10 mg/l permet de supprimer les germes gram négatif ; la méthicilline pour sa part, a une action inhibitrice sur les germes gram positif aux doses de 10 à 50 mg/l. Outre les antibiotiques, des agents inhibiteurs tels le cétrimide peuvent être ajoutés pour obtenir des géloses sélectives SOLARI (266) HEDBERG (135).

Pour notre étude nous avons sélectionné un milieu permettant le développement du plus grand nombre possible de germes. Nous verrons plus loin quelle est la formule que nous avons utilisée.

De même, la température d'incubation de ces milieux est un paramètre

de la plus haute importance. Ainsi, à 37° C nous obtenons de manière indiscutable une sélection dans la culture des germes atmosphériques.

En résumé, le choix d'un milieu nutritif, de la température d'incubation, présente autant d'importance que celui de l'appareil de prélèvement, comme l'a souligné KINGSTON (155). Il faut non seulement que le choix soit le meilleur possible mais aussi que la fabrication soit aisée et fiable.



CHAPITRE V

LES RESULTATS OBTENUS
=====

5. LES RESULTATS OBTENUS

=====

Théoriquement, toutes les bactéries peuvent être véhiculées par l'atmosphère. Pratiquement, on est loin de toutes les retrouver.

Les travaux de MIQUEL (211) et (212) restent parmi les plus complets sur ce sujet. Ses résultats sont d'ordre qualitatif :

| | |
|---------------|------|
| - Microcoques | 66 % |
| - Bacillus | 25 % |
| - Bacterium | 6 % |
| - Vibrio | 3 % |

et quantitatif. Dans ce dernier cas, il observe des variations de la flore totale en fonction des lieux de prélèvement ou des saisons. Il trouve ainsi 2,5 fois plus de bactéries à la ville qu'à la campagne, 3 fois plus l'été que l'hiver. A cette époque l'air de Paris contenait de 7 à 8000 bactéries/m³, alors que celui du Parc de Montsouris 100 à 400. Il note également un phénomène de périodicité diurne avec des maxima et des minima, variables selon les saisons. Il montre également l'influence des précipitations atmosphériques : elles purifient l'air si elles surviennent en période sèche, elles augmentent la pollution en période humide.

MIQUEL souligne également l'importance du vent comme facteur aggravant de la pollution. Enfin, cet auteur montre que la majorité des bactéries atmosphériques provient du sol et que 10 % seulement sont vivantes.

De leur côté, HESSE (140) et PETRI (234) en 1888 réalisent une étude quantitative des germes atmosphériques. FLUGGE (92) en 1897 envisage, quant à lui, une théorie mixte de la contagion en émettant l'hypothèse de gouttelettes porteuses de germes en provenance du naso-pharynx. Ces gouttelettes sont contagieuses, mais leur dispersion est faible.

Si ce mécanisme existe, il est en fait beaucoup plus complexe. Il fut mieux connu grâce aux remarquables travaux de TRILLAT (273) (274) (275)

au début de ce siècle. Les études portèrent en particulier sur la dispersion des germes dans l'air et des facteurs l'influençant.

Après TRILLAT, on trouve dans la littérature, des travaux plus fragmentaires. C'est ainsi que POMPEANI (236) en 1911, en étudiant l'air de la ville d'Ajaccio, décrit une centaine de nouvelles espèces bactériennes, pour la plupart des microcoques.

SATORY et LANGLOIS (253) en 1912 puis, plus récemment BESSON (19) mettent en évidence des Sarcines jaunes, blanches, des staphylocoques blancs et rouges et du *Bacillus subtilis* dans l'air de la rue des Blancs Manteaux (Paris Xe).

A l'étranger, KELLY et PADY (151) (152) travaillant à Montréal avec un collecteur à fentes de BOURDILLON, à 400 pieds au dessus du niveau du sol notent une variation saisonnière caractéristique avec 0,7 à 2 bactéries /f3 en Janvier, Février, Mars, et 4 à 20 bactéries/f3 d'Avril à Juin et de Septembre à Novembre.

En étudiant l'air au dessus du Labrador, ces mêmes auteurs déterminent les pourcentages suivants de bactéries :

| | |
|---|--------|
| . Bacilles gram négatif
(<i>Flavobacterium</i> , <i>Achromobacter</i> ,
<i>Pseudomonas</i>) | 4,9 % |
| . Bacilles gram négatif pléomorphiques | 23,8 % |
| . <i>Micrococcus</i> | 18,8 % |
| . <i>Sarcina</i> | 4,6 % |
| . <i>Bacillus</i> | 37,9 % |
| . Indéterminés | 10 % |

En France, les seuls travaux importants de ces deux dernières décennies ont été réalisées par MAISONNET. En 1959, cet auteur (192) commença de travailler en Afrique sur l'air de la forêt subtropicale et de la savane. Avec son hydroaéroscope, il dénombra 3,4 germes/l d'air dans la zone littorale, 2 germes/l d'air dans la savane et 11 germes/l sur le marché d'Abidjan.

Sur le plan des espèces, il trouve des *Bacillus* (*pumilus*, *subtilis*, *cereus*, *licheniformis*, *megaterium*, *polymyxa*, *lentus* pasteurü), des *Micrococcus* (*aurantiacus*, *candidus*, *varians*), des *Sarcina* (*flava*, *littoralis*, *lutea*, *aurantiaca*) et quelques autres germes comme *Flavobacterium*, *Gaffkya*, *E. coli* et *Staphylocoque* doré pathogène ; ces deux derniers sur le marché d'Abdijan.

A la même époque (191) une étude de l'air marin au large de la côte africaine, par ce même auteur, montre l'absence de germe pathogène et une teneur moyenne se situant entre 0,5 et 3 germes/l. Sur le plan des espèces il mentionne des *Bacillus* (*pumilus*, *subtilia*, *cereus*, *megaterium*), des *Micrococcus* (*conglomeratus*, *candidus*, *rhodochrous*, *caseolyticus*, *varians*, *freunderenchii*, *aurantiacus*, *flavus*) et des *Sarcina* (*lutea*, *flava*, *aurantiaca*).

En 1961, MAISONNET et PLANTY (193) publient une étude de la flore de l'air marin ; étude résumée en 1962 par MAURANGES (201) : 1085 souches bactériennes se répartissent de la manière suivante, 64,7 % de *Bacillus*, 25,7 % de *Micrococcus* et *Staphylococcus*, 6,72 % de *Sarcina*, 0,55 % de *Gaffkya*, 2,11 % de *Flavobacterium*, 0,09 % de *Achromobacter* et 0,09 % de *Corynebacterium*.

Au cours d'autres expériences en 1962, GREENE et BOND (110) trouvent une composition bactériologique moyenne de l'air différente : 42,6 % de Cocci gram positif, 19,2 % de Bacilles gram positif, 14 % de bacilles gram négatif, 17,1 % de moisissures, 2,2 % d'Actinomycètes et 1,2 % de levures.

De 1965 à 1967, MAISONNET, SERIS et AUFFRET adaptent leur dispositif de prélèvement à bord d'un avion ; ils montrent la présence de germes à 6500 mètres d'altitude par - 30° C de température (194) et (195).

Une autre étude a été effectuée en altitude par FULTON et MITCHELL (101, 98, 99, 100). Ces auteurs montrent le rôle des inversions de température et celui des courants de convection.

En 1965, BOIZIS (21) et (22) montre, à Marseille, au niveau des "tours" des grands ensembles, que le nombre de germes est plus élevé en étage (1.412.000 germes/m³ d'air au 17e étage) qu'au rez-de-chaussée (340 000 germes /m³ d'air à 1 m du sol).

De même, le nombre de germes est plus important par beau temps, clair et froid, que par temps couvert ; la pollution chimique serait responsable de ce phénomène. Les germes identifiés sont toujours les mêmes, c'est à dire des *Bacillus*, des *Micrococcus*, des *Sarcina* et des *Staphylococcus*.

En 1967, CHOLLET, NAOCARD, FILET (38) avec un matériel de filtration sur Millipore décrit par LAÏONDE et COIN (161) montrent des différences significatives entre une rue à passage moyen (71 germes/m³) et une rue à fort passage (240 germes/m³), des locaux inoccupés (140 germes/m³) et suroccupés (500 germes/m³).

Du point de vue de la périodicité, on peut encore citer les travaux de FADY et KRAMER (125) qui mettent en évidence un maximum à 10 h du matin et ceux de MAMMARELLA et D'ARCA (199) qui montrent que la concentration est plus faible en hiver et maximum au printemps et au début de l'automne, en relation possible avec des poussières végétales.

En résumé, nous pouvons remarquer :

- que les concentrations de germes peuvent être très différentes selon le mode de prélèvement utilisé ;
- que les études qualitatives sont rares, seuls les germes courants étant envisagés (*Bacillus*, cocci gram positif) ;
- qu'il semble exister une flore saprophyte de base, ubiquitaire, composée essentiellement de *Bacillus* et de cocci gram positif, sur laquelle viennent se greffer des bactéries très diverses, reflétant les circonstances locales particulières ("flore accidentelle"). Cette "flore de base", probablement tellurique, est mise en suspension par les turbulences atmosphériques.
- enfin, que les travaux effectués sur les atmosphères d'hôpitaux sont bien plus nombreux que ceux pratiqués sur les atmosphères libres et présentés ici.



C H A P I T R E I

PIEGEAGE DES MICROCONSTITUANTS ATMOSPHERIQUES
=====

.

I. PIEGEAGE DES MICROCONSTITUANTS ATMOSPHERIQUES.

=====

1.1. Introduction.

Dans la première partie de ce travail, nous avons pu voir le grand nombre d'appareillages de prélèvement, de principes différents, dont le but est principalement l'analyse des particules, biologiques ou non, en atmosphères closes non turbulentes.

Les caractéristiques que nous avons retenues pour la mise au point d'un dispositif de prélèvement des microconstituants dans l'air sont les suivants :

- échantillonnage en continu
- grand volume d'aspiration
- analyses quantitative et qualitative possibles

(en conséquence le système de prélèvement ne doit pas être traumatisant pour les bactéries)

- échantillonnage sélectif, de manière à se rapprocher des conditions physiologiques d'inhalation et de rétention des "poussières" par l'arbre trachéo-bronchique (taille de 1 à 10 μ).

1.2. Description du collecteur.

1.2.1. Principes

Cet appareillage, basé sur un principe original a, cependant, un lointain ancêtre, l'aérofiltre de G. RICHEL (248) (1909). L'air était aspiré par un ventilateur dans un cylindre à raison de 200 m³/h puis lavé par des gouttelettes d'eau obtenues au niveau des pales en rotation.

Le principe du collecteur réalisé au C.R.S.S.A. consiste à "laver" un très grand volume d'air par un microbrouillard d'eau déminéralisée stérile. On obtient ainsi le transfert, dans une très petite quantité d'eau, des particules contenues dans un volume d'air bien supérieur (2.10^7 fois).

Ce phénomène est continu et quasi instantané. Toute variation de la concentration bactérienne dans l'atmosphère est aussitôt décelée. Si la récupération de l'eau vésiculaire était totale et les prélèvements d'eau nuls, la concentration des bactéries augmenterait de manière indéfinie. Avec une légère perte d'eau vésiculaire et des prélèvements réguliers, la concentration des microconstituants tend vers une asymptote, représentative de la concentration des bactéries dans l'air.

1.2.2. Description

Elle a été faite par FONTANGES et ISOARD (93) en 1968. Nous ne reprendrons ici que les éléments de base, susceptibles d'aider à une meilleure compréhension du fonctionnement de l'appareil.

1.2.2.1. *Orifice d'aspiration :*

Il s'agit d'un cylindre de 25 cm de haut et de 1 mètre de diamètre (soit une superficie de $0,78 \text{ m}^2$), protégé par un treillis en toile inoxydable de maille 1 mm^2 .

Ce filtre a pour but d'arrêter toutes les particules de grosse taille (Insectes, débris végétaux...).

A l'intérieur du cylindre se trouve une batterie de 3 éléments chauffants (15 KW). Ces résistances se mettent automatiquement en service dès que la température descend au dessous de 0° C . Les prélèvements peuvent ainsi être effectués jusqu'à une température extérieure de $- 20^\circ \text{ C}$.

1.2.2.2. *Séparateur de particules*

A la suite du cylindre d'aspiration, on trouve un séparateur "Cyclogalax sec" de 20 cm de diamètre et de 75 cm de haut. Il s'agit d'un

appareil basé sur le principe des cyclones qui sépare par voie sèche, les particules de taille supérieure à $10\ \mu$.

Il est constitué par un aubage de mise en rotation, suivi d'une zone d'écoulement irrotationnel avec noyau rotationnel peu important et d'un système de redressement des filets fluides.

Dans cette partie de l'appareil le champ centrifuge associé à la carte des vitesses prend une valeur beaucoup plus élevée, que dans les cyclones axiaux classiques, en sorte que, dilatée, la spirale conduit les microconstituants beaucoup plus vite à la paroi. Les particules dont le diamètre est supérieur à $10\ \mu$ décrivent une spirale quasi logarithmique, qui permet de les recueillir dans un récipient placé à la sortie du séparateur sec. Les particules d'un diamètre inférieur, sont dirigées vers le laveur sous-jacent.

1.2.2.3. *Laveur "Solivore"*

Il est le siège d'une pulvérisation constante d'eau déminéralisée filtrée ; son fonctionnement repose sur le principe de la saturation préalable d'un gaz à l'aide d'une pulvérisation très fine d'eau. Ce brouillard est créé à l'aide de deux gicleurs contrariés, pulvérisant l'eau qui arrive à une pression de $12\ \text{kg/cm}^2$, avec un débit de $4\ \text{m}^3/\text{h}$. Cette pulvérisation intéresse toute la section du conduit.

1.2.2.4. *Venturi*

Il comporte deux entonnoirs opposés permettant une détente continue des gaz. Dans le convergent où la vitesse augmente et la pression diminue (Loi de BERNOULLI), se produit une détente et une condensation instantanée, les particules solides faisant noyau de condensation.

Dans le divergent, la décélération provoque de nombreux chocs agglutinant les particules enrobées d'eau et les gouttelettes et forme une véritable bruine.

1.2.2.5. *Séparateur "Cyclogalax" humide*

Il fonctionne comme le "Cyclogalax sec" ; il permet de séparer les gouttelettes d'eau chargées en microconstituants.

En dérivation se trouve une vanne de prélèvement.

1.2.2.6. *Circuit d'alimentation en eau*

L'appareil peut être utilisé à partir d'eau provenant d'une canalisation normale (version fixe), ou d'un réservoir équipé d'un surpresseur (version mobile).

Dans les deux cas, l'eau est d'abord filtrée sur des bougies en bronze poreux, puis déminéralisée sur des résines échangeuses d'ions en lit mélangé, enfin stérilisé sur des bougies en porcelaine, type Chamberland L5.

Ce circuit aboutit à une cuve à niveau constant dont le but est de compenser les pertes d'eau dues aux prélèvements et à l'évaporation.

Une pression de 12 kg/cm² permet la dispersion de l'eau au niveau des gicleurs.

Il existe donc deux circuits ; un d'alimentation en eau déminéralisée, l'autre, de récolte des microconstituants atmosphériques. Les prélèvements sont réalisés sur une dérivation de ce dernier. Deux cellules à résistivité contrôlent en continu les deux circuits. De même, la température de l'eau fait l'objet de mesures systématiques.

1.2.2.7. *Circuit d'air*

L'aspiration de l'air et son débit forcé sont rendus possibles par l'emploi d'un motoventilateur tournant à 3000 t/mn et aspirant 1300 m³/heure.

Les résistances chauffantes empêchent, lors des expériences en températures trop basses, les phénomènes de givrage au niveau des gicleurs (Figure n° 1).

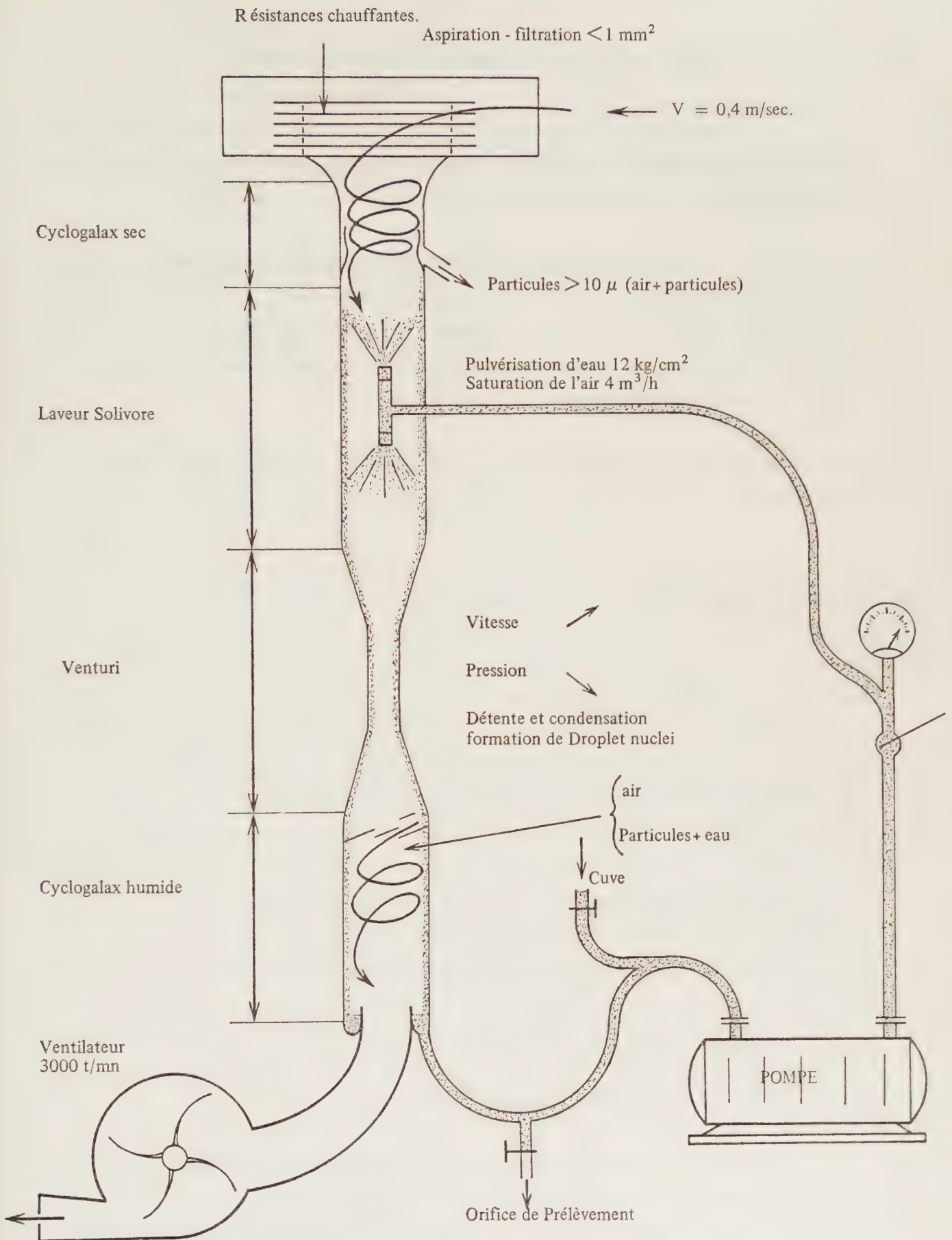


FIGURE N° 1 : SCHEMA DU COLLECTEUR UTILISE.

1.2.2.8. *Réalisation technique et implantation*

L'ensemble du collecteur, d'une hauteur de 5 mètres et d'un poids de 500 kg est fixé sur une plaque châssis montée elle-même sur silent-bloc afin d'atténuer les phénomènes vibratoires.

Le collecteur lui-même a été réalisé dans son ensemble en acier inoxydable et un soin tout particulier a été apporté à la réalisation des gicleurs qui ne doivent pas se corroder ni changer de calibre au cours des expériences malgré les caractéristiques physiques de l'eau sous pression chargée d'impuretés minérales en particulier.

Ce problème a été résolu en utilisant des pastilles d'acier au carbure.

Les canalisations d'eau sont en substance plastique inerte chimiquement (Rilsan - PVC).

Un premier appareillage a été installé sur les terrasses du laboratoire du C.R.S.S.A. à 35 mètres du niveau du sol (S.E.P.A.). Un second a été rendu mobile et autonome sur camion tout terrain, dont une partie a également été équipée en laboratoire (C.L.E.P.A.). Le courant nécessaire est fourni par un groupe électrogène de 25 KVA, tracté.

1.3. Techniques utilisées pour l'étude des prélèvements.

1.3.1. Mise en route du collecteur, stérilisation

Quand on utilise le collecteur mobile, la mise en place technique de l'appareillage est rapide (30 minutes environ). L'opération la plus longue est celle de la stérilisation du circuit d'eau.

En effet, surtout par temps chaud, certaines bactéries captées lors de l'expérience précédente, peuvent se développer dans l'eau restant dans les canalisations et la pompe, malgré les vidanges effectuées. C'est ainsi que nous avons pu suivre au photomètre l'augmentation de la néphélobimétrie de l'eau souillée par un *Pseudomonas*.

Il faut donc stériliser le collecteur après chaque arrêt important.
De nombreux moyens furent employés :

- ◇ vapeur d'eau sous pression, méthode efficace mais d'emploi délicat,
- ◇ antiseptiques tels que l'hexachlorophène (G 11) en solution alcoolique, méthode valable, mais il est difficile ensuite de se débarrasser de cet antiseptique qui est actif avec de très faibles doses résiduelles.

Notre choix s'est finalement porté sur le soluté d'hypochlorite de sodium du commerce, antiseptique peu coûteux, non moussant, peu rémanent et facile à détecter.

La stérilisation se fait donc en ajoutant 200 ml de Na ClO dans la cuve à niveau constant ; le circuit d'eau est mis sous pression et on obtient une solution à 3 % environ qui diffuse dans tous les organes de l'appareillage. Après 10 minutes de fonctionnement, le circuit est vidangé et on pratique 3 rinçages à l'eau déminéralisée stérile.

A l'aide du réactif de Villiers ou d'une solution d'iodure de potassium en milieu acide, on vérifie que le chlore a bien été éliminé. Les réactions sont d'ailleurs toujours négatives dès la fin du premier rinçage.

Par ailleurs, l'efficacité de la stérilisation est vérifiée par l'ensemencement de 2 boîtes de gélose nutritive qui, après incubation doivent rester stériles ou ne présenter qu'une à deux colonies (en effet lors des lavages un peu d'air peut être aspiré par la tuyère même sans la mise en marche du ventilateur).

1.3.2. Prélèvements

1.3.2.1. *Schéma d'étude*

Ils sont réalisés au moyen d'une vanne manuelle placée en dérivation sur le circuit, entre la sortie du cyclogalax humide et l'alimentation de la

Le volume et la périodicité des prélèvements sont fonction des besoins de l'étude. C'est ainsi que pour les études de constituants inertes la périodicité est horaire et les prélèvements de 1000 ml.

Pour l'étude bactériologique, 10 ml suffisent et on peut faire des prélèvements beaucoup plus rapprochés, de 5 min. en 5 min. par exemple.

Les prélèvements sont recueillis et analysés d'après le schéma de la figure n° 2.

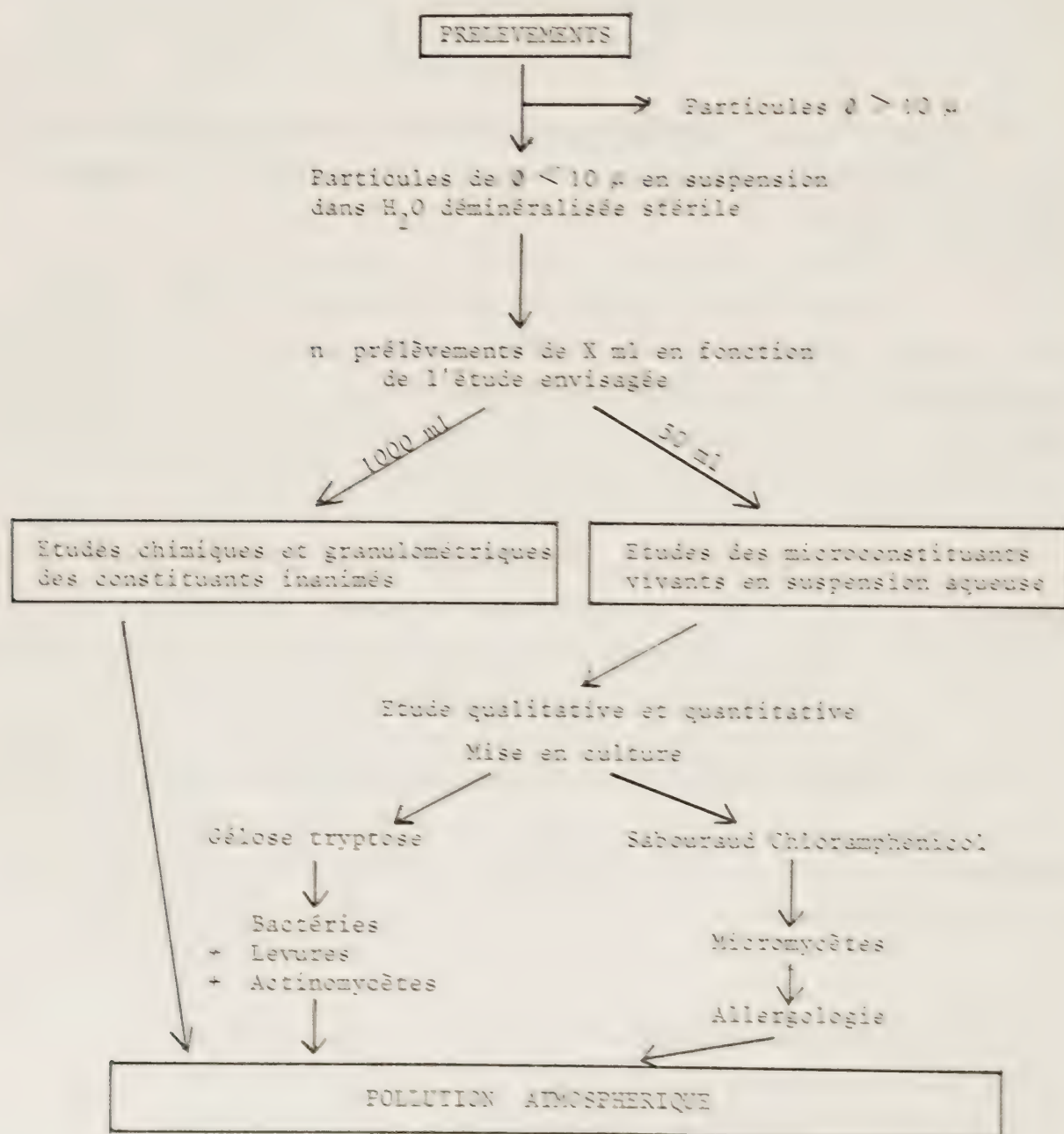


FIGURE N° 2

Parallèlement aux prélèvements, on note certaines données pouvant servir aux enquêtes ultérieures :

- résistivité du prélèvement, mesurée à l'aide d'un pont de Wheatstone
- pH ;
- conditions météorologiques locales.

Les conditions météorologiques régionales nous sont fournies par la Direction régionale de la météorologie de LYON-BRON et la situation générale par le Bulletin quotidien de renseignements de l'O.N.M.

1.3.2.2. *Analyse physique*

Il s'agit avant tout de mesures granulométriques. Cette analyse est réalisée à l'aide d'un compteur corpusculaire électronique⁺. Un millilitre de chaque prélèvement est dilué au 1/10 dans une solution électrolytique spéciale⁺⁺.

Des comptages sont effectués dans les gammes de granulométrie de 1, 2, 3, 4, 5 et 10 μ . Les résultats bruts obtenus sont ensuite traités dans un programme informatique spécifique⁺⁺⁺ qui permet de corriger les chiffres en tenant compte des "passages en coïncidence", de calculer la valeur exacte des particules pour une granulométrie donnée (ainsi que le volume total de ces particules), de calculer également les pourcentages des particules pour chaque classe granulométrique.

1.3.2.3. *Analyse chimique*

Les analyses chimiques ont été pratiquées de manière synchrone. La prise d'essai est variable, 50 ou 1000 ml ; les différentes méthodes d'analyse chimique, les résultats ainsi que leur discussion ont été publiés par ailleurs. CALOP (34) - VANDROUX-BADOR-CALOP-ISOARD (277).

⁺ Coulter Z₄

⁺⁺ ISOTON COULTRONICS

⁺⁺⁺ Programme "Blackwater" (C.R.S.S.A.)

1.3.2.4. *Analyse biologique*
.....

C'est elle que nous décrirons en détail et qui fera l'objet du chapitre suivant.



C H A P I T R E I I

ETUDE BACTERIOLOGIQUE
=====

2. ETUDE BACTERIOLOGIQUE

=====

Comme nous venons de le voir, nos prélèvements atmosphériques se présentent à la sortie du collecteur sous forme d'une suspension représentative de la pollution à un moment donné. L'étude bactériologique correspondante comporte un double aspect :

- QUANTITATIF et
- QUALITATIF.

2.1. Etude quantitative

Comme méthode de dénombrement, nous avons retenu l'ensemencement d'un volume connu de l'échantillon sur un milieu nutritif coulé en boîte de Pétri.

Le milieu nutritif que nous avons choisi après différentes expériences, est une gélose tryptose⁺ de formule :

| | |
|-------------------|------|
| Tryptose | 10 g |
| Extrait de viande | 3 g |
| NaCl | 5 g |
| Agar | 15 g |

stérilisé à la température de 121° C pendant 15 minutes et séché.

Dans la majorité des cas, nous avons ensemencé 0,05 ml de la suspension pure ou 0,10 ml de la suspension diluée au 1/10 dans une eau stérile, ou les deux à la fois. Les volumes sont prélevés avec précision à l'aide de pipettes DUCLAUX stériles.

⁺ DIFCO

L'étalement sur boîte de Pétri se fait à l'aide d'un rateau de verre stérilisé à la flamme avant usage. Les boîtes sont ensuite incubées à la température de + 30° C, à l'obscurité pendant 48 h ; puis à la température du laboratoire et à la lumière pendant une semaine.

Deux lectures sont pratiquées, l'une à la 48e heure, l'autre entre le 6e et le 8e jour.

Le dénombrement des colonies est réalisé à l'aide d'un compteur à éclairage à 45° muni d'un crayon marqueur. De cette façon, mêmes les petites colonies transparentes et punctiformes ne peuvent échapper au comptage.

Le rythme des prélèvements est, le plus souvent, horaire. La plupart du temps, les expériences ont été menées simultanément en 2 points bien précis :

- à la station fixe (S.E.P.A.) située au C.R.S.S.A. à Lyon,

- à la station d'étude mobile (C.L.E.P.A.) dont l'emplacement est choisi d'avance selon les conditions météorologiques et l'idée directrice de l'expérience.

2.2. Etude qualitative

2.2.1. Classement des colonies

Après incubation et développement dans des conditions standardisées de leur pouvoir chromogène, les colonies sont ensuite classées selon certains critères tels que la couleur et la taille.

2.2.1.1. *Couleur*

Les couleurs sélectionnées sont les suivantes :

- | | |
|-------------------|------------------|
| - Translucide (T) | - Orange (O) |
| - Blanc (B) | - Jaune (J) |
| - Crème (C) | - Rose-rouge (R) |
| - Beige (G) | |

Il est évident que ces caractères purement subjectifs, ne peuvent être comparés et interprétés que par une seule et même personne.

2.2.1.2. *Taille*

5 catégories de taille ont été définies :

| | | |
|---|---|----------------------|
| 1 | = | < 1 mm (punctiforme) |
| 2 | = | 1 - 2 mm |
| 3 | = | 3 - 4 mm |
| 4 | = | 5 - 6 mm |
| 5 | = | > 6 mm |

2.2.1.3. *Codage des colonies*

A l'intérieur d'une catégorie de taille, nous attribuons aux colonies un numéro d'ordre qui correspond à leur description chronologique. Ainsi, T 36 signifie colonie translucide, de diamètre 3 à 4 mm et sixième colonie décrite de ce type.

Différents tableaux ont été constitués pour regrouper toutes les colonies observées au cours de nos différents prélèvements, et repérer ainsi aisément les colonies déjà identifiées. Ces dernières sont alors simplement comptées tandis que celles qui apparaissent pour la première fois sont répertoriées puis repiquées pour leur étude ultérieure.

2.2.2. Repiquage des colonies

Toute colonie nouvelle est repiquée, dans un bouillon, et sur une boîte de Pétri contenant le même milieu (gélose tryptose) que pour l'isolement.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec des bouillons riches de type M.R.S. complet :

| | |
|-------------------|------|
| Polypeptone | 10 g |
| Extrait de viande | 10 g |
| Extrait de levure | 5 g |
| Glucose | 20 g |
| Tween 80 | 1 ml |
| $K_2 HPO_4$ | 2 g |

Citrate trisammonique⁺ 2 g

(ou 100 ml de la préparation
liquide)

$Mg SO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,2 g

$Mn SO_4 \cdot 4 H_2O$ 0,05 g

eau distillée Q.S.P. 1000 ml

On chauffe à l'ébullition. On répartit en tubes après avoir ajusté le pH à 7,0 - 7,1 avec de la soude 4 N. On autoclave 20 minutes à 120° C. Ce milieu est très riche et apporte des ions, des hydrates de carbone, des vitamines. Il convient donc particulièrement au développement de germes très exigeants. Le bouillon ensemencé est ensuite mis à l'étuve pendant 5 jours à 30° C.

2.2.3. Détermination des caractères de base des germes repiqués

2.2.3.1. Aspect du bouillon

Après l'incubation, le bouillon est examiné directement dans l'étuve, ou ressorti avec de grandes précautions. On peut noter :

- la présence ou l'absence d'un voile à la surface,
- l'intensité du trouble,
- la présence ou l'absence d'un culot, ainsi que son aptitude à se remettre en suspension après agitation.

* Citrate trisammonique :

Poils citrique : 1,58 g à dissoudre dans 20 ml d'eau distillée

Neutralisation avec de l'ammoniaque

On complète à 100 ml avec de l'eau distillée.

2.2.3.2. *Mobilité*

Une goutte de bouillon prélevée à l'anse de platine et montée entre lame et lamelle permet un examen direct extemporané.

On apprécie la mobilité du germe mais également sa forme, son groupement et la présence éventuelle de spores.

2.2.3.3. *Coloration de Gram*

Elle est pratiquée sur la suspension de germes en milieu liquide et sur un prélèvement en milieu solide. C'est le temps capital du diagnostic différentiel des colonies. Nous avons utilisé le gram classique, mais aussi celui où la fuschine est remplacée par la safranine. Dans ce dernier cas la morphologie des germes est mieux définie et l'identification des bactéries dites gram intermédiaire (*Bacillus* 2e et 3e groupe, *Brevibacterium*, *Corynebactéries*...) est plus facile.

2.2.3.4. *Réaction de l'oxydase.*

Deux réactions ont été effectuées simultanément sur chaque colonie :

- la réaction de KOVACS pour rechercher l'oxydase
- la réaction de EWING et JOHNSON pour détecter la cytochrome-oxydase.

2.2.3.4.1. *Réaction de Kovacs* + + + + + + + +

Sur un fragment de papier filtre WHATMAN N° 1 disposé dans le couvercle d'une boîte de Pétri stérile, on verse 2 ou 3 gouttes du réactif constitué par une solution aqueuse à 1 % de Chlorhydrate de tétraméthyl para phénylène diamine.

Le prélèvement se fait impérativement avec un fil de platine. En effet un fil en nickel-chrome donnerait une réaction faussement positive.

On étale une colonie sur le papier imbibé de réactif. Une coloration brun violet qui survient immédiatement prouve l'existence d'une oxydase

dans l'équipement enzymatique du germe.

2.2.3.4.2. *Cytochrome - oxydase*
+ + + + + + + + + +

On procède de la même façon que précédemment mais avec le réactif suivant :

- Solution à 1 % d'alpha-naphtol dans de l'alcool à 95°
- Solution à 1 % d'oxalate de para-amino-dimethyl-amine dans l'eau distillée.

Les 2 solutions sont mélangées à parties égales.

Une réaction positive se traduit par une couleur bleue intense en 2 minutes au maximum.

2.2.3.5. *Réaction de la catalase*
.....

Elle est effectuée sur une lame de verre, sur laquelle on verse 2 ou 3 gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes. Avec l'anse de platine, on émulsionne la colonie bactérienne. La présence de catalase se traduit par un dégagement de bulles.

2.2.3.6. *Type respiratoire*
.....

Dans des tubes de 8 x 200 mm, on répartit du milieu VF (Viande - Foie) de formule :

| | |
|--------------------|--------|
| Base Viande - Foie | 20 g/l |
| Glucose | 2 g/l |
| Agar | 6 g/l |

Le pH final est ajusté à 7,6.

On stérilise à 120° C pendant 30 minutes

Le milieu est régénéré au bain-marie bouillant, 20 minutes avant usage.

On ensemence ensuite à l'aide d'une pipette Pasteur lorsque la température est redescendue vers 48° C. Après avoir effectué un mouvement circulaire de bas en haut avec la pipette plongée dans le milieu, on refroidit immédiatement les tubes en les mettant dans un b cher rempli d'eau froide. On incube ensuite à 30° C pendant 5 jours.

Les germes aérobie stricts ne poussent qu'à la surface. Les germes aéro-anaérobie poussent dans tout le tube. Enfin les germes microaérophiles (ayant besoin d'une tension en oxygène particulière) poussent dans le tube au niveau où cette tension est atteinte.

On remarquera que le milieu de culture doit être strictement exempt de nitrates pour éviter le développement des *Pseudomonas* qui les utilisent en anaérobiose.

2.2.3.7. *Métabolisme du glucose*

Nous avons utilisé le milieu décrit par HUGH et LEIFSON :

| | |
|-----------------------------------|---------|
| . Trypticase | 2 g |
| . NaCl | 5 g |
| . K ₂ HPO ₄ | 0,3 g |
| . Bleu de Bromothymol | 0,03 g |
| . Agar | 3 g |
| . Eau distillée | 1000 ml |
| . pH = 7,2 | |

réparti dans des tubes similaires à ceux que nous avons déjà décrit pour étudier le type respiratoire. On stérilise 20 minutes à 120° C, on régénère au bain-marie bouillant 20 minutes. On ajoute ensuite, à la température de 48° C, une solution de glucose stérile à 10 %, de manière à avoir une concentration finale de 1 %. On laisse refroidir. On inocule par piqu re centrale profonde dans 2 tubes pour chaque colonie. Un tube est recouvert de paraffine liquéfiée stérile pour soustraire le milieu à l'oxygène. On incube à 30° C pendant 5 à 10 jours. L'interprétation est la suivante :

. aucun virage dans les 2 tubes : germe qui ne métabolise pas le glucose.

- . virage au jaune en surface du tube non recouvert de paraffine :
germe oxydatif vis à vis du glucose,
- . virage identique dans les 2 tubes : germe qui fermente le sucre
- . virage au bleu foncé (le plus souvent le tube au contact de l'air) :
germe qui alcalinise le milieu.

Nous signalerons que la lecture doit se faire dès le deuxième jour puis tous les 2 jours jusqu'au dixième. En effet, certains germes peuvent commencer à oxyder avant de fermenter très tardivement le glucose.

2.2.4. Les problèmes posés par la taxonomie.

Il existe à l'heure actuelle trois grands systèmes de classification :

- celui proposé dans le "BERGEY'S Manual of determinative bacteriology" 1974 (17)
- celui de A.R. PREVOT et J. MAGROU remanié en 1961 par A.R. PREVOT (239)
- le système soviétique de KRASSILNIKOV (156).

Ces 3 systèmes de classification n'ont aucune relation entre eux. Celui qui fait sans doute le plus autorité, et qui est aussi le plus récent, est contenu dans la huitième édition du BERGEY'S.

A côté de ces trois grandes classifications, certains auteurs ont travaillé plus spécialement sur une famille, un genre, une espèce, ou sur un milieu naturel tel que : eau douce, eau de mer, effluents divers....

2.2.4.1. Les clés dichotomiques

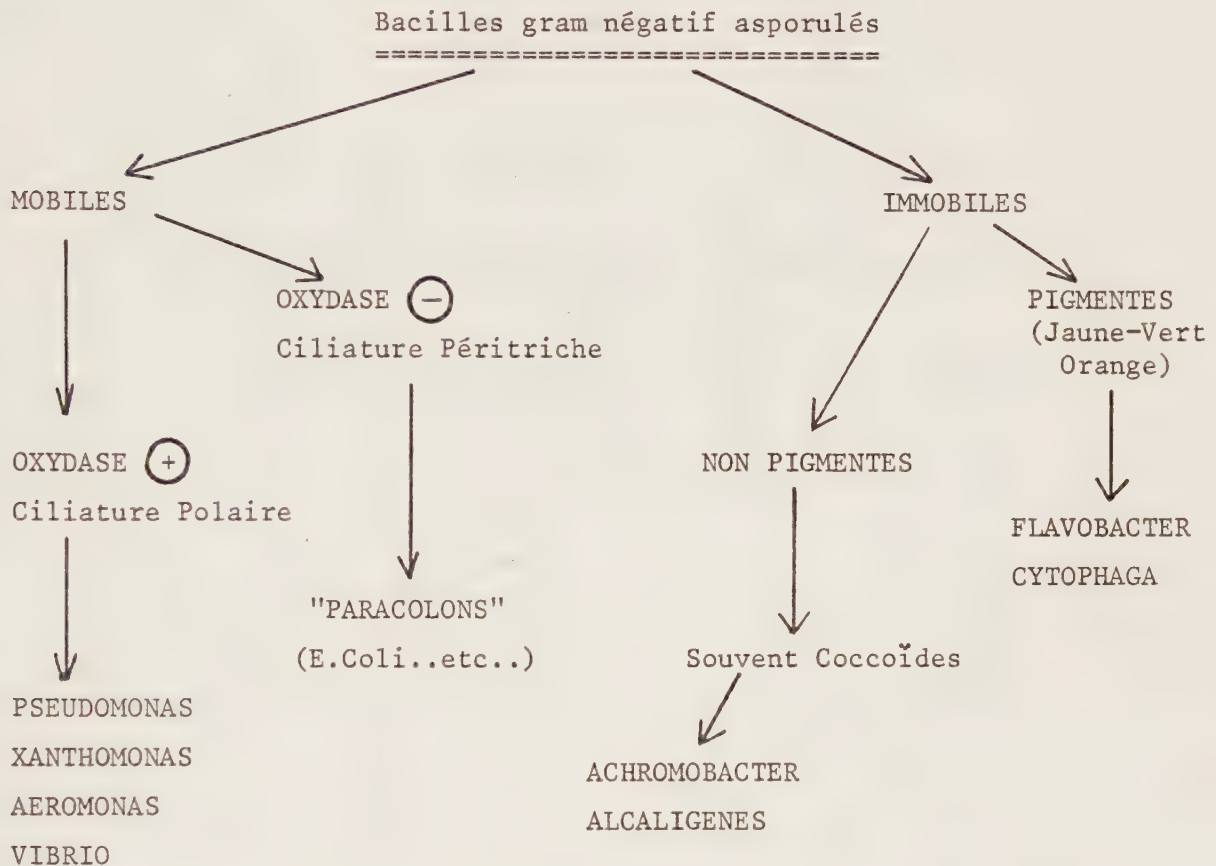
Ce sont des schémas simples de diagnostic bactériologique. Ils sont basés sur des caractères importants qui selon leur positivité ou leur négativité orientent sur telle ou telle famille ou bien tel ou tel genre. Il est

évident que le choix de ces caractères est arbitraire, et que certains sont "privilégiés".

2.2.4.1.1. *La clef de SHEWAN* (261)

+++++

SHEWAN en 1960, en travaillant sur les bactéries de l'eau de mer et des poissons a proposé un schéma simple pour l'identification des bacilles gram négatif non sporulés (Tableau n° XVI).



T A B L E A U N° XVI

2.2.4.1.2. *Clefs de DENIS* (67)

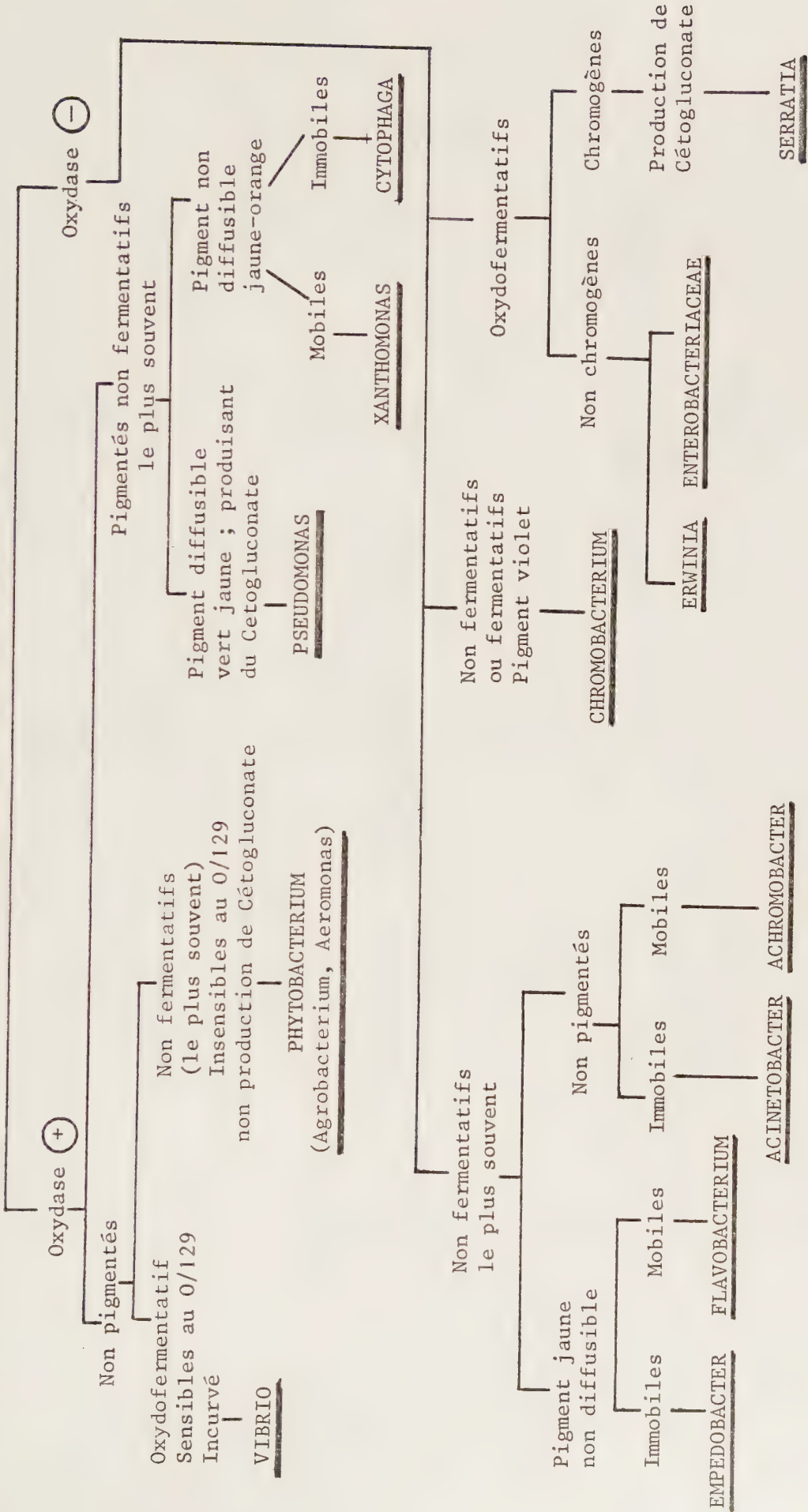
+ + + + + + +

Dans la thèse de DENIS, en 1971, nous trouvons citées de nombreuses clefs dichotomiques, qui utilisent, selon BRISOU, des caractères biochimiques simples tels que :

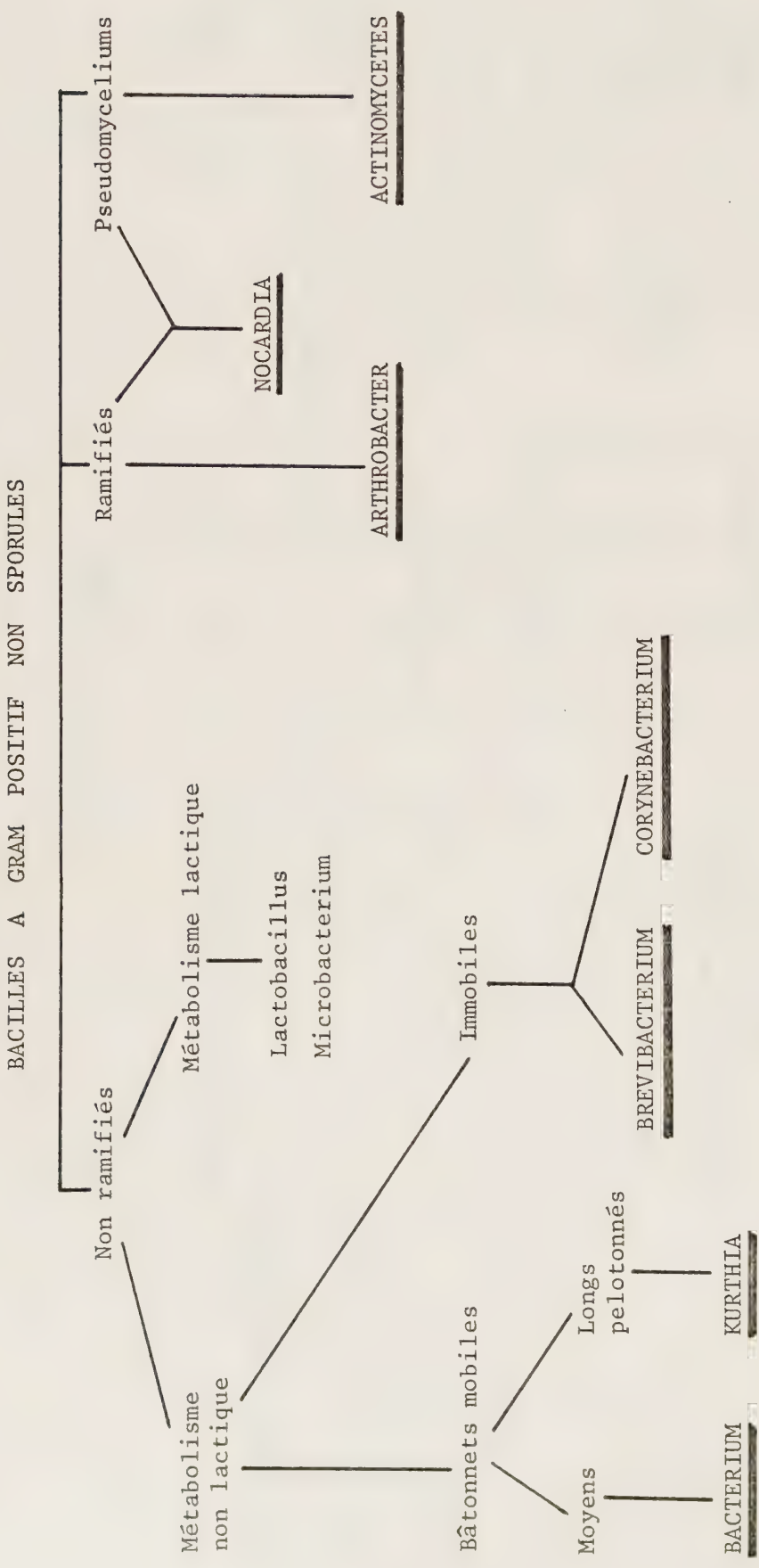
- la gélatinolyse
- la réduction des nitrates
- la glucidolyse du lactose.

Nous rapportons ici les 3 principales clefs :

- Bacilles à gram négatif non sporulés (Tableau N° XVII)
- Bacilles à gram positif non sporulés (Tableau n° XVIII)
- Cocci gram positif (Tableau N° XIX)

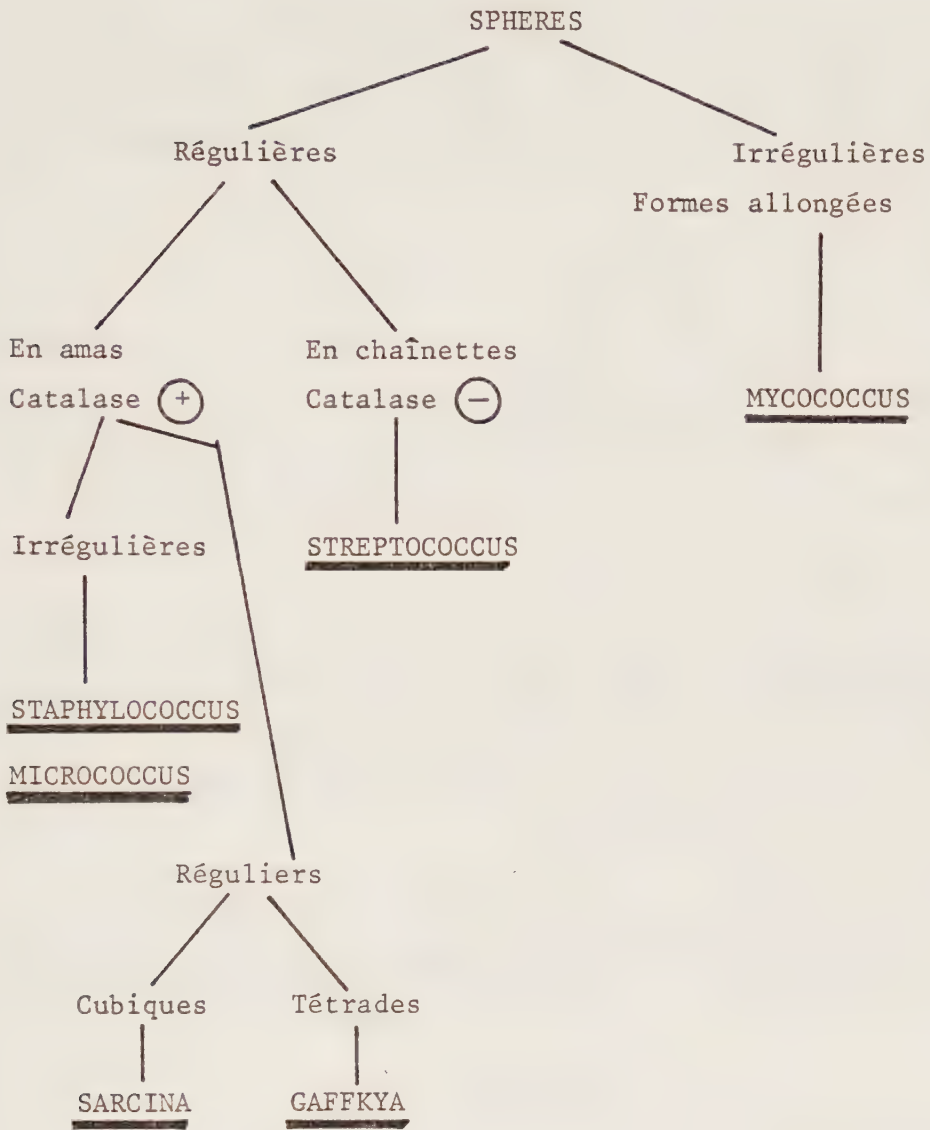


T A B L E A U N° XVII



T A B L E A U N° XVIII

COCCI A GRAM POSITIF



T A B L E A U N° XIX

2.2.4.2.2.3. *Flavobacterium*
 = = = = =

Bacilles immobiles ou mobiles à ciliature péritriche. Les colonies sont pigmentées en jaune, orange, rouge ou brun. Les pigments ne sont pas solubles dans le milieu.

Les cultures sont difficiles à transplanter après le primo-isolement.

Métabolisme oxydatif. Pour que la production d'acide ait lieu il faut agiter les cultures. De plus, la pigmentation des colonies dépend beaucoup de la température d'incubation.

Peu de souches sont réellement aéroanaérobies.

Oxydase négative. Catalase positive.

Genre de classification incertaine dans le *BERGEY'S*.

2.2.4.2.2.4. *Actinobacillus*
 = = = = =

Genre également de classification incertaine.

Bacille avec des formes cocci donnant un aspect caractéristique au gram (en lettres "morses"). Immobile. Fermentatif.

β galactosidase, nitrates, uréase positifs. Oxydase et catalase variables.

2.2.4.2.3. *Coccis et Coccobacilles gram négatif*
 + + + + + + + + + + + + + + + + +

2.2.4.2.3.1. *Neisseria*
 = = = = =

Cocci groupé souvent en paires, immobiles.

Les hydrates de carbone sont peu utilisés. Aérobie ou Aéroanaérobie.

Catalase et oxydase positives.

2.2.4.2.3.2. *Branhamella*

= = = = =

Cocci gram négatif avec tendance à résister à la décoloration. Pas de production d'acide à partir des hydrates de carbone.

Catalase et oxydase positives. Les nitrates sont habituellement réduits.

Aérobie strict.

2.2.4.2.3.3. *Moraxella*

= = = = =

Coccobacille à métabolisme oxydatif.

Les hydrates de carbone ne sont pas utilisés.

Catalase et oxydase positives.

Aérobies stricts. Très sensibles à la pénicilline.

2.2.4.2.3.4. *Acinetobacter*

= = = = =

Coccobacille aérobie strict, à métabolisme oxydatif.

Oxydase négative. Catalase positive. Résistant à la pénicilline. Mobile par "glissement".

2.2.4.2.4. *Cocci gram positif*

+ + + + + + + + + +

2.2.4.2.4.1. *Micrococcus*

= = = = =

Métabolisme strictement oxydatif.

Aérobies stricts. Catalase positive.

2.2.4.2.4.2. *Staphylococcus*

= = = = =

Métabolisme fermentatif. Catalase positive.

De nombreux hydrates de carbone sont acidifiés en particulier en présence d'air.

Aéroanaérobies. Résistants à la polymyxine. Pour compléter la distinction entre staphylocoques et microcoques, nous pouvons ajouter le tableau de PENY et BUISSIÈRE (230) :

| | GC % | Glucose ou Anaérobiose | DL Alanyl β Naphthylamide | A.D.C. |
|----------------|---------|------------------------|---------------------------------|--------|
| Staphylococcus | 30 - 40 | - ou $\pm$ | - | + |
| Micrococcus | 60 - 70 | - ou $\pm$ | + | - |

2.2.4.2.5. Bacilles gram positif sporulés + + + + + + + + + + + + + + +

2.2.4.2.5.1. Bacillus = = = =

Formation de spores thermorésistantes.
La majorité des souches sont mobiles.
Aérobies stricts ou aéroanaérobies.
Catalase positive la plupart du temps.
Métabolisme variable.
48 espèces sont réparties en 2 groupes.

2.2.4.2.6. Bactéries du groupe *Corynebacterium* + + + + + + + + + + + + + + +

2.2.4.2.6.1. Corynebacterium = = = = =

Ce genre est divisé en 3 sections :

- SECTION I : Parasites et pathogènes pour l'homme et les animaux.
- SECTION II : Pathogènes pour les plantes
- SECTION III : Non pathogènes.

Bacilles gram positif généralement immobiles.

Métabolisme des hydrates de carbone mixte.

Aérobies ou aéroanaérobies. Catalase positive.

2.2.4.2.6.2. *Arthrobacter*

= = = = =

Ces bactéries se distinguent aisément par leur faculté de changer de morphologie avec le temps. Les cultures déjà vieilles (2 à 7 jours) sont constituées en majorité de formes coccoïdes. Parfois en milieu très riche, il apparaît des formes ramifiées. Gram positif avec cependant des décolorations possibles. Métabolisme oxydatif, jamais fermentatif. Catalase positive. Aérobies stricts.

2.2.4.2.6.3. *Brevibacterium*

= = = = =

Genre de classification incertaine. La tendance actuelle va vers la répartition des bactéries classées dans ce genre en *Corynebactéries* et *Arthrobacter*.

D'ailleurs beaucoup d'auteurs estiment que *Arthrobacter Globiformis* est identique à *Brévibacterium linens*.

Nous avons tout de même conservé le genre *Brevibacterium* dans nos déterminations, en nous servant des 6e et 7e éditions du *BERGEY'S*. Bacille très souvent court et immobile, à colonies pigmentées en rose, orange ou jaune. Souvent aérobies stricts. Catalase positive.

De plus il faut bien garder à l'esprit que les micro-organismes sont sujets à de nombreuses variations phénotypiques même lors d'un repiquage à l'autre.

Nous retiendrons que les clefs proposées ne sont pas absolues et que certains germes sont insuffisamment décrits pour pouvoir être identifiés avec certitude.

2.2.5. Les identifications par les méthodes classiques.

Les tests les plus simples qui nous ont permis une approche de l'espèce bactérienne sont les suivants :

- Résistance à la pénicilline, à la novobiocine
- Attaque de la gélatine
- Action sur les nitrates
- Action sur le glucose
- Action sur le lactose
- Production d'indole
- Production d'H₂S
- Présence d'une uréase
- Action sur le lait
- Action sur le citrate
- Attaque de l'amidon
- Présence d'une lipase
- Attaque de la caséine
- Recherche d'une lécithinase
- Test à l'O.N.P.G.
- Action sur l'esculine
- Culture sur milieu de LOEFFLER
- Actions sur certains sucres comme : saccharose, mannitol, arabinose, maltose...
- Recherche d'une coagulase, DN ase, phosphatase.

Ces tests sont décrits dans tous les manuels de bactériologie, nous n'insisterons donc pas. Signalons cependant que nous avons fixé la température d'incubation à 30° C et les durées d'incubation de 5 à 10 jours.

La perte de temps, la difficulté de préparer les milieux, le volume encombrant de toute galerie de tubes font de ces méthodes classiques d'identification bactérienne des méthodes délicates à entreprendre sur une grande échelle. De plus, il est indispensable que l'on puisse "orienter" le diagnostic vers un genre donné.

C'est pourquoi, après cette étude classique, fort longue, des souches que nous avons isolées dans l'atmosphère, nous avons tenté de mettre au point un schéma d'identification à partir de la technique des microtubes d'YVAN HALL suivant BUISSIÈRE (32) et (31).

Dès lors, le problème consistait à s'adapter aux exigences nutritives des germes, à trouver le milieu adéquat et à standardiser suffisamment la méthode pour être utilisable à n'importe quelle souche de bactéries.

Précisons enfin, que le laboratoire du Docteur PIECHAUD, à l'Institut Pasteur de PARIS, a bien voulu contrôler 26 de nos souches prises au hasard.

2.2.6. Essai d'adaptation d'une technique à l'identification des bactéries atmosphériques.

2.2.6.1. Rappel du principe de la technique

Il est bon de rappeler que nous ne devons étudier que des caractères techniquement spécifiques, réalisables et reproductibles, afin d'assurer une normalisation toujours souhaitable en taxonomie bactérienne.

Description du matériel brut utilisé

Il s'agit de microtubes plastiques basés sur le principe des tubes de YVAN - HALL⁺.

Les tubes sont disposés côte à côte, à intervalles réguliers, et forment des séries de 20 ou 50 selon les besoins. Pour notre étude, nous avons utilisé :

- 1) des tubes sans substrat pour la galerie d'orientation (cf. infra).

⁺ API-SYSTEM ©

2) des plaques de 20 tubes⁺ avec leurs substrats permettant l'étude des caractères suivants :

| | | | |
|------------------|----------------------------|------|------------|
| O.N.P.G. | β . galactosidase | GEL | Gélatine |
| A.D.H. | Arginine Dihydrolase | GLU. | Glucose |
| L.D.C. | Lysine Décarboxylase | MAN. | Mannitol |
| O.D.C. | Ornithine Décarboxylase | INO. | Inositol |
| CIT. | Citrate | SOR. | Sorbitol |
| H ₂ S | Formation H ₂ S | RHA. | Rhamnose |
| URE. | Uréase | SAC. | Saccharose |
| T.D.A. | Tryptophane désaminase | MEL. | Melibiose |
| IND. | Indole | AMY | Amygdaline |
| VP | Acétoïne | ARA | Arabinose |

3) Des plaques de 50 tubes "Entérobactéries".

Ces plaques, commercialisées, contiennent les substrats permettant l'étude des caractères suivants :

| | | | |
|----|----------------------|----|-------------------------|
| 0 | Témoin | 26 | Salicine |
| 1 | Glycérol | 27 | d (+) Cellobiose |
| 2 | Erythritol | 28 | Maltose |
| 3 | d (-) Arabinose | 29 | Lactose |
| 4 | d (+) Arabinose | 30 | d (+) Mélibiose |
| 5 | Ribose | 31 | Saccharose |
| 6 | d (+) Xylose | 32 | d (+) Tréhalose |
| 7 | l (-) Xylose | 33 | Inuline |
| 8 | Adonitol | 34 | d (+) Mélizitose |
| 9 | Méthylxyloside | 35 | d (+) Raffinose |
| 10 | Galactose | 36 | Dextrine |
| 11 | d (+) Glucose | 37 | Amylose |
| 12 | d (-) Lévulose | 38 | Amidon |
| 13 | d (+) Mannose | 39 | Glycogène |
| 14 | d (-) Sorbose | 40 | O.N.P.G. |
| 15 | Rhamnose | 41 | Arginine Dihydrolase |
| 16 | Dulcitol | 42 | Lysine Décarboxylase |
| 17 | Mésosinositol | 43 | Ornithine décarboxylase |
| 18 | Mannitol | 44 | Citrate de Sodium |
| 19 | Sorbitol | 45 | H ₂ S |
| 20 | Méthylmannoside | 46 | Urée |
| 21 | Méthyl (d) glucoside | 47 | Tryptophane désaminase |
| 22 | N-acétylglucosamine | 48 | Indole |
| 23 | Amygdaline | 49 | Acétoïne |
| 24 | Arbutine | | |
| 25 | Esculine | | |

L'indicateur coloré est le rouge de phénol qui vire au jaune à pH = 6,8.

4) Des plaques de 50 tubes "LACTOBACILLUS" ⁺ .

La liste des caractères est la même que la précédente jusqu'au tube 39. Les suivants contiennent :

| | | | |
|----|------------------------|----|-----------|
| 40 | Arginine Dihydrolase | 45 | NaCl 6 % |
| 41 | Glucose | 46 | NaCl 10 % |
| 42 | Glucose + 0,4 % Teepol | 47 | O.N.P.G. |
| 43 | Glucose + 0,6 % Teepol | 48 | Nitrites |
| 44 | NaCl 4 % | 49 | Acétoïne |

L'indicateur est le pourpre de bromocrésol qui vire au jaune à pH = 5,2.

2.2.6.2. *Principes directeurs*

Les études taxonomiques réalisées sur les *Lactobacillus* par PAULE (228) en 1971, et par JOLY (149) en 1973 sur le genre *Bacillus* nous ont permis de penser qu'il était possible de mettre au point une technique normalisée pour identifier n'importe quelle bactérie (indépendamment de sa morphologie, de son gram et de sa provenance). Nous disposions d'un matériel idéal, le soucier confectionné personnellement lors des différentes expériences de prélèvements atmosphériques réalisées au C.R.S.S.A.

Nous avons donc testé toutes les souches que nous avons isolées, vis à vis de quelques 120 caractères différents selon un processus qui sera décrit ultérieurement.

Le grand nombre des caractères utilisés peut accroître les difficultés de classement par la mise en évidence de mutants, mais aussi, peut la faciliter par la positivité de la négativité d'autres caractères. Afin de démontrer la valeur de cette microtechnique, il était nécessaire de traiter parallèlement des souches de collection. Celles-ci nous ont été fournies aimablement par l'Institut Pasteur de Paris.

2.2.6.3. *Galerie d'orientation*

2.2.6.3.1. *But* + +

Cette phase capitale a pour but de déterminer, le plus rapidement possible, le mode d'étude le plus favorable qui sera employé ultérieurement pour l'identification. A l'aide de 10 tubes de la forme décrite plus haut, nous recherchons le comportement de la souche vis à vis du glucose, dans différentes conditions opératoires, comme l'indique le tableau suivant :

| N° du tube | Milieu
+ Colorant
utilisés | Remplissage |
|------------|---|--|
| 1 | Milieu minimum tamponné
+ Rouge de phénol | Cupule remplie d'huile |
| 2 | Milieu minimum tamponné
+ B. C. P. | Cupule remplie d'huile |
| 3 | Milieu minimum tamponné
+ Rouge de phénol | Tube et cupule
remplis de milieu
semi-gélosé |
| 5-6-7-8 | id - mais avec milieu de
HUTNER | |
| 9 - 10 | MRS identification
+ Rouge de phénol

MRS identification
+ B.C.P. | Cupule remplie d'huile |

Une autre série de 10 tubes est utilisée de la même manière, mais avec les milieux suivants :

- Milieu de HUTNER additionné d'extrait de levure à 2 ‰.
- Milieu de WINOGRADSKY
- Milieu M.R.S. complet.

Par ailleurs, chaque série se lit par comparaison avec une galerie témoin ne contenant pas de glucose, mais toujours les indicateurs colorés :

| | | | | | | | | | |
|---|-----|-----------------------|-----|---|-----|-----------------------|-----|--|-----|
| Rouge
de
Phénol | BCP | Rouge
de
Phénol | BCP | Rouge
de
Phénol | BCP | Rouge
de
Phénol | BCP | Rouge
de
Phénol | BCP |
| Sous huile | | Tube +
Cupule | | Sous huile | | Tube +
Cupule | | Sous huile | |
| - Milieu tamponné
ou - Milieu HUTNER +
levure | | | | - Milieu HUTNER
- Milieu WINOGRADSKY | | | | - MRS identifi-
cation
- MRS complet | |

TABLEAU RECAPITULATIF N° XX

2.2.6.3.2. *Description technique*
+ + + + + + + + + + +

2.2.6.3.2.1. Préparation des plaques
= = = = =

Les plaques sans substrat sont remplies d'une solution de glucose dans le rouge de phénol ou le B.C.P.

1) Préparation de la solution de rouge de phénol

♦ Solution de polyvinylpyrrolidone (A.P.V.) à 2 % dans de l'eau distillée : dissolution dans 50 ml d'alcool de 10 g d'A.P.V. ; addition de 500 ml d'eau distillée, ébullition jusqu'à dissolution complète, neutralisation par la soude N/10 jusqu'à pH = 7,4 ; stérilisation à 115° C, 20 minutes.

♦ Solution au 1/6000 de rouge de phénol dans l'eau distillée (250 ml) : dissolution dans la soude N du rouge de phénol (2 - 3 ml), ajuster à 250 ml avec de l'eau distillée, neutralisation du pH jusqu'à pH = 7,4 ; stérilisation

à 115° C, 20 minutes.

♦ Mélange de 250 ml d'A.P.V. à 2 % et de 250 ml de rouge de phénol.
au 1/6000

La concentration finale au moment de la mise en tubes est donc de

A.P.V. = 1 %

Rouge de phénol = 1/12 000

2) Préparation de la solution de B.C.P.

♦ Solution d'A.P.V. : obtenue de la même manière que précédemment.

♦ Solution de B.C.P. au 1/1000 dans l'eau distillée, pH ajusté à 6,8, stérilisation à 115° C pendant 20 minutes.

♦ Mélange de 250 ml d'A.P.V. à 2 % et de 250 ml de B.C.P. à 1/1000.

La concentration finale au moment de la mise en tubes est donc de 1 % pour l'A.P.V., 1/2000 pour le B.C.P.

3) Préparation des solutions de glucose à 5 % (0,1 M) dans le rouge de phénol et le B.C.P., avec vérification des pH = 7,4 pour le rouge de phénol ; 6,8 pour le B.C.P.

4) Répartition dans les tubes de 40 microlitres de ces solutions selon le tableau N° XX)

5) Séchage des plaques verticalement, pendant une nuit à l'étuve à 37° C.

Les plaques ainsi préparées sont utilisables dès le lendemain matin. On notera qu'elles ne se souillent pas lors de leur dessiccation à l'étuve du fait du fort pouvoir antiseptique des colorants, à la concentration utilisée avant dilution par la suspension microbienne.

2.2.6.3.2.2. Préparation des milieux = = = = =

2.2.6.3.2.2.1. Milieu minimum tamponné

Nous avons utilisé le tampon Sörensen. Celui-ci est fabriqué à partir de 2 solutions mélangées en proportion variable selon le pH désiré.

Solution A : Phosphate monopotassique
M/15 soit 9,08 g/l

Solution B : Phosphate disodique M/15
soit 11,88 g/l pour $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$
ou 23,87 g/l pour $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12 \text{H}_2\text{O}$

Pour obtenir un pH de 6,8, on mélange :

50,8 ml de solution A
et 49,2 ml de solution B

Pour un pH de 7,4, on mélange : 19,6 ml de solution A
et 80,4 ml de solution B

Au moment de l'emploi, on utilise un tampon M/90.

On mélange donc 1 partie de tampon M/15 et 5 parties d'eau distillée. On répartit en fioles de 100 ml.

On stérilise à 115° C pendant 20 minutes. Avant toute utilisation, on régénère au bain marie bouillant.

2.2.6.3.2.2. Agar_tamponné

Nous l'avons préparé en gélosant le précédent bouillon à 7 °/100. De cette manière, nous obtenons un milieu semi-liquide qui, après régénération, est maintenu à la température de 40° C pour l'ensemencement.

2.2.6.3.1.3. Bouillon de HUTNER

La préparation que nous avons utilisée est une modification de celle de COHEN-BATIRE, SISTROM et STANIER (40).

Une base minérale bien définie, apporte toutes les traces de cations métalliques nécessaires, ainsi qu'une quantité suffisante d'azote et de phosphore. Le milieu final est obtenu par dilution de 3 solutions : un tampon, une solution de sulfate d'ammonium qui joue le rôle de source d'azote et la base minérale.

Les concentrations finales des différents composants sont les suivantes :

| | | | |
|-------------------------------------|------------|-------------------|------------|
| Na^+ | 0,05 M | K^+ | 0,025 M |
| PO_4^{---} | 0,05 M | NH_4^+ | 7,55 mM |
| SO_4^{--} | 3,78 mM | Mg^{++} | 6,0 mg/l |
| Ca^{++} | 1,8 mg/l | Fe^{+++} | 0,14 mg/l |
| Zn^{++} | 0,25 mg/l | Mn^{++} | 0,01 mg/l |
| Ni^{++} | 0,05 mg/l | Cu^{++} | 0,01 mg/l |
| Co^{++} | 0,005 mg/l | S^{+++} | 0,002 mg/l |
| Acide éthylène diamino-tétracétique | | | 0,25 mg/l |
| Acide nitriloacétique | | | 0,02 mg/l |

Le pH est de 6,8.

La préparation de la base minérale commence par celle de la solution d'oligo-éléments appelée "Métaux 44" par HUTNER. Chaque composant n'est ajouté qu'après dissolution complète du précédent. Les produits suivants sont dissous dans 800 ml d'eau distillée et dans l'ordre donné :

| | | |
|---|---------|--|
| 2,5 d'E.D.T.A. libre | | |
| Zn SO ₄ , 7 H ₂ O | 10,95 g | |
| Fe SO ₄ , 7 H ₂ O | 5,0 g | |
| Mn SO ₄ , H ₂ O | 1,54 g | |
| Cu SO ₄ , 5 H ₂ O | 392 mg | |
| Co (NO ₃) ₂ , 6 H ₂ O | 250 mg | |
| Na ₂ B ₄ O ₇ , 10 H ₂ O | 177 mg. | |

On chauffe légèrement et on ajoute quelques gouttes d'H₂SO₄ concentré pour supprimer la précipitation. On complète à 1 litre ; on obtient une solution claire de couleur "citron vert". La base minérale concentrée contient par litre :

| | |
|--|---------|
| Acide nitriloacétique (N.T.A.) | 20 g |
| Mg SO ₄ anhydre | 28,9 g |
| Ca Cl ₂ , 2 H ₂ O | 6,67 g |
| (NH ₄) ₂ MO ₇ O ₂₄ , 4 H ₂ O | 18,5 mg |
| Fe SO ₄ , 7 H ₂ O | 198 mg |
| "Métaux 44" | 100 ml |

Le N.T.A., dissous séparément est neutralisé par de la potasse (14,6 g). Les autres composants sont alors ajoutés et dissous dans l'ordre donné. On ajuste le pH à 6,8 avant de compléter le volume à 1 litre avec de l'eau distillée. On remarque un précipité quand on ajuste le pH à l'aide de la potasse, mais ce précipité est détruit rapidement par agitation. Cette base minérale concentrée peut se conserver 1 an à + 4° C. Le milieu définitif

se prépare de la manière suivante :

KH_2PO_4 : 1,3 g pour 400 ml d'eau distillée

On amène à pH = 6,8 par de la potasse à 40 %

Base minérale concentrée de HUTNER : 10 ml

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 2 g

H_2O distillée Q.S.P. 1000 ml

On stérilise à 120° C pendant 20 minutes.

Ce milieu est réparti en tubes à essai de telle manière qu'un tube puisse ensuite remplir 50 microtubes.

2.2.6.3.2.2.4. Gélose de Hutner

Nous avons préparé un milieu semi-liquide à partir du bouillon décrit ci-dessus, en le gélosant avec de l'agar à 7 °/..

2.2.6.3.2.2.5. Bouillon de HUTNER + Extrait de levure

A la formule de HUTNER, on ajoute 2 °/.. d'extrait de levure que l'on peut remplacer par un complexe vitaminique de composition connue (ISOVITALEX[®] par exemple). L'extrait de levure peut en effet contenir des traces de sucres, notamment du tréhalose, qui peuvent fausser les résultats.

2.2.6.3.2.2.6. Gélose HUTNER + Extrait de levure

C'est le même milieu que ci-dessus, mais gélosé à 7 °/..

2.2.6.3.2.2.7. Bouillon_WINOGRADSKY

On prépare les solutions suivantes :

- Solution A

| | |
|-------------|---------|
| $K_2 HPO_4$ | 5 g |
| Mg SO_4 | 2,5 g |
| Na Cl | 2,5 g |
| Fe SO_4 | 0,05 g |
| Mn SO_4 | 0,05 g |
| Eau QSP | 1000 ml |

- Extrait de terre

| | |
|-----------------|---------|
| Terre de jardin | 1 kg |
| Eau distillée | 1000 ml |

On stérilise 1 heure à 130° C

On filtre le surnageant. On obtient environ 700 ml de résidu aqueux.

- Bouillon final

On mélange :

- 3 g de $NH_4 NO_3$
- 0,02 g d'extrait de levure
- 50 ml d'extrait de terre
- 50 ml de Solution A
- 900 ml d'eau distillée.

On ajuste à pH 6,8 - 7

On stérilise à 115° C, 20 minutes.

2.2.6.3.2.2.8. Gélose_WINOGRADSKY

Même milieu que ci-dessus mais gélosé à 7 %.

2.2.6.3.2.2.9. Bouillon M.R.S. Identification

Il est fabriqué de la façon suivante :

| | |
|---------------------|---------|
| Polypeptone : | 10 g |
| Extrait de levure : | 5 g |
| $K_2 H PO_4$ | 1 g |
| $Mg SO_4, 7 H_2O$: | 0,2 g |
| $Mn SO_4, 4 H_2O$: | 0,05 g |
| Eau distillée : | 1000 ml |

On répartit en tubes après avoir ajusté le pH à 6,8.

On stérilise à 120° C pendant 20 minutes.

2.2.6.3.2.2.10. Bouillon M.R.S. complet

La formule a été indiquée au chapitre "Repiquage des colonies".

2.2.6.3.2.3. Préparation de la suspension bactérienne =====

A partir d'une culture fraîche sur gélose tryptose, on émulsionne une colonie prélevée à l'anse de platine :

- soit directement dans le bouillon s'il s'agit d'un milieu liquide,
- soit dans un tube contenant 10 ml d'eau distillée. Ce tube nous sert ensuite à ensemencer le milieu semi-liquide maintenu en surfusion.

2.2.6.3.2.3.1. Etude en milieu liquide

L'expérience nous a montré que les réactions biochimiques apparaissent rapidement si les suspensions bactériennes étaient denses.

BUISSIERE (32) et BARBE (9) ont indiqué que le milieu de suspension pour l'étude des métabolismes n'avait pas pour but d'assurer une

prolifération mais seulement d'apporter les éléments énergétiques ou les vitamines nécessaires au fonctionnement des différents métabolismes.

En fait, seule l'expérience permet de définir la densité optique optimale des suspensions bactériennes si on veut obtenir des résultats rapides.

2.2.6.3.2.3.2. Etude en milieu semi-gélosé

On remplit l'ensemble du tube et de la cupule.

La croissance du germe est détectée à la partie supérieure de la gélose, au niveau de la cupule. S'il y a virage de l'indicateur coloré, on a aussi une acidification. Pour séparer ces deux phénomènes, l'ensemencement du milieu doit être très discret. C'est pourquoi nous avons choisi de passer par l'intermédiaire d'une suspension dense en eau distillée, et de reprendre X gouttes de cette suspension que nous introduisons dans un tube de milieu semi-gélosé maintenu en surfusion.

2.2.6.3.2.4. Mise en oeuvre = = = = =

A partir des différents milieux ensemencés, le remplissage des cupules s'effectue avec une pipette Pasteur stérile. On fait couler le milieu liquide ou semi-gélosé le long de la paroi du tube, la "plaquette" étant maintenue sensiblement verticale. Selon les cas on remplit le tube pour les milieux liquides, ou, l'ensemble tube et cupule pour les milieux gélosés. Dans certains tubes, on remplit la cupule restée vide avec de l'huile de paraffine stérile. On met à l'étude à 30° C. Les lectures se font à 48 heures, 3 et 6 jours plus tard.

2.2.6.3.2.5. Lecture des résultats = = = = =

La lecture quantifiée des résultats est très particulière à cette microméthode, elle est la conséquence de la normalisation.

A chaque lecture, on apprécie :

. Le virage du milieu, qui traduit une acidification pour les milieux liquides sous huile.

. A l'aide d'une loupe, la croissance des germes au niveau de la cupule, pour les milieux semi-gélosé. Chaque fois que la croissance est accompagnée d'acidification, le phénomène est noté.

L'intensité des caractères est transcrite par un chiffre compris entre 0 et 5. Zéro correspond aux réactions négatives et 5 aux réactions très positives. Il est convenu de mettre le chiffre 3 à toute réaction positive incontestable. Les notes 1 et 2 sont attribuées au cas où l'acidification apparaît juste à l'interface huile - milieu. C'est ce qui se produit quand l'acidification du sucre est lente. Dès lors, dans la majorité des cas, la réaction atteint le niveau 3 après 48 heures.

L'expérience montre, également, que le plus important est de noter le temps d'apparition de cette positivité incontestable.

En résumé, la notation est la suivante :

| | | |
|---|---|-----------------------------------|
| 0 | = | négatif |
| 1 | = | douteux, faible |
| 2 | = | douteux |
| 3 | = | positif faible mais incontestable |
| 4 | = | positif |
| 5 | = | très positif |

2.2.6.3.2.6. Enregistrement des résultats =====

Pour chaque lecture, l'enregistrement des résultats doit être très facile et très rapide.

1) Dans ce but, nous utilisons des fiches spéciales, où seuls les

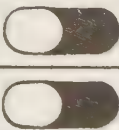
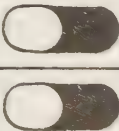
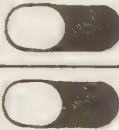
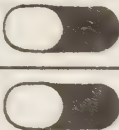
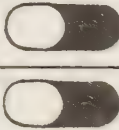
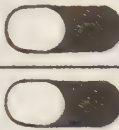
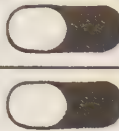
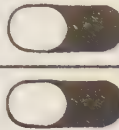
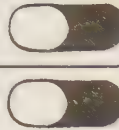
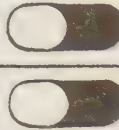
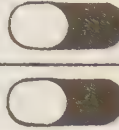
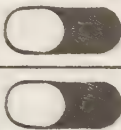
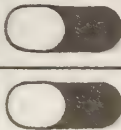
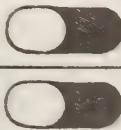
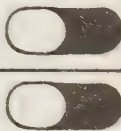
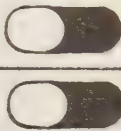
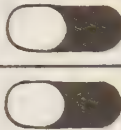
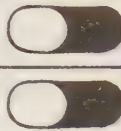
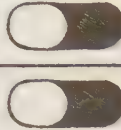
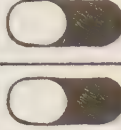
| Numéro | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 |
|-----------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|--|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Indicateurs | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP | RY | BCP |
| Substrat :
GLUCOSE |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Technique | Sous Huile | T + C | T + C | Sous Huile | T + C | Sous Huile | T + C | Sous Huile | T + C | Sous Huile | T + C | Sous Huile | Sous Huile | T + C | Sous Huile | T + C | Sous Huile | Sous Huile | Sous Huile | Sous Huile |
| Témoin sans substrat |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| MILIEU | Milieu tamponné | | | H U T N E R | | | HUTNER +
LEVURE | | | WINOGRADSKY | | | M R S
Id. | | | M R S
Complect | | | | |
| Numéro | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 |

TABLEAU N° XXI : TABLEAU RÉCAPITULATIF D'ENSEMENCEMENT DES GALERIES D'ORIENTATION

2.2.6.3.3. *Utilité de la galerie d'orientation*

+ + + + + + + + + + + + + + + + +

Il serait fastidieux de donner ici, un catalogue de tous les profils obtenus. Cependant pour comprendre la suite de notre expérimentation, il est nécessaire de citer les remarques que ces galeries nous ont permis de faire. De plus, la standardisation des études biochimiques et de croissance en dépend.

Sur les 105 souches atmosphériques différentes que nous avons isolées nous avons constaté les faits suivants :

2.2.6.3.3.1. A propos des milieux

= = = = =

- ♦ AGAR TAMPONNE très peu de germes utilisent le glucose (sauf les Enterobactéries et quelques germes peu exigeants, par exemple).
- ♦ MILIEU HUTNER beaucoup de souches poussent et acidifient
- ♦ MILIEU HUTNER + LEVURE pratiquement toutes les souches acceptent ce milieu.
- ♦ MILIEU WINOGRADSKY de bons résultats sont obtenus notamment avec les Arthrobacter, Brevibacterium et Corynebactéries. Pour les autres groupes les résultats sont moins bons.
- ♦ MILIEU MRS identification et complet les résultats sont ininterprétables car ces milieux très riches entraînent des réactions même dans les tubes témoins.

2.2.6.3.3.2. A propos des indicateurs colorés

= = = = =

Les meilleurs résultats sont constatés avec :

- le rouge de phénol, pour la technique de lecture d'acidification sous huile.

- le B.C.P., pour les études de croissance en milieu semi-gélosé.

En résumé, grâce à cette étude préalable, nous avons pu standardiser les techniques de déterminations biochimiques de nos souches atmosphériques.

Tous les germes ont été étudiés de la façon suivante :

- ensemencement d'une plaque 20 caractères (API 20^E®) à partir d'une suspension en bouillon de HUTNER

- ensemencement d'une plaque 50 caractères (API 50^E®), à partir d'une suspension en bouillon de HUTNER + extrait de levure pour l'étude des acidifications sous huile. L'indicateur coloré est le rouge de phénol.

- ensemencement d'une plaque 50 caractères (API Lactobacillus 50[®]) à partir d'une suspension en milieu semi-gélosé de HUTNER + extrait de levure pour l'étude des croissances. L'indicateur coloré est le B.C.P.

2.2.6.4. Etude des bactéries atmosphériques

.....

2.2.6.4.1. Etude des 20 premiers caractères

+ + + + + + + + + + + + + + + +

Nous avons utilisé la plaque de 20 caractères API 20^E®. La suspension bactérienne dense, est réalisée dans du bouillon de HUTNER. L'inoculation se fait à l'aide d'une pipette Pasteur, en prenant soin de ne pas faire de bulles d'air, notamment dans le tube de gélatine. On remplit uniquement le tube (0,12 ml) sauf pour le citrate, VP, et gélatine où l'on remplit tube et cupule. On ajoute ensuite de l'huile de paraffine stérile, dans les cupules des réactions suivantes : ADH, LDC, ODC, urée.

On incube à 30° C, après avoir placé la galerie dans un récipient en plastique contenant un peu d'eau sur le fond, afin d'éviter une évaporation trop intense.

Dans cette étude préliminaire, on peut distinguer 2 types de caractères :

- ceux qui sont spontanément révélés
- ceux qui sont révélés par un indicateur toxique qui ne sera ajouté qu'après la fin du temps d'incubation.

Voici, résumées dans le tableau ci-joint, les réactions effectuées.

La transcription est effectuée sur des feuilles similaires à celles que nous avons vues précédemment. La lecture se fait à 48 h, 3 jours et 4 jours après avoir déposé l'inoculum. Les caractères TDA, indole, VP sont révélés à l'issue du quatrième jour. De plus la réduction des nitrates en nitrites est recherchée dans le tube glucose en ajoutant :

- 1 goutte d'acide sulfanilique (à 8 % en acide acétique 5 N)
- 1 goutte d'alpha-naphtylamine (à 6 % en acide acétique 5 N).

La réaction est positive si le milieu vire au rouge. Si le milieu reste jaune, nous ajoutons une petite pincée de poudre de zinc pour rechercher si la réduction des nitrates n'est pas allée jusqu'au stade de l'azote.

2.2.6.4.2. Etude de l'acidification à l'aide d'une
 +
 galerie de 50 caractères
 +

L'ensemencement est réalisé avec un bouillon HUTNER additionné d'extrait de levure. On remplit uniquement les tubes sauf le tube 49 (réaction de VP). Une réaction positive se traduit par une coloration jaune. Après remplissage des cupules avec de l'huile de paraffine stérile (Sauf 49), on place la galerie dans un récipient plastique contenant de l'eau afin d'éviter tout phénomène d'évaporation. On met en incubation à 30° C. On lit 24 h, 48 h, 4 jours et 6 jours après. La réaction de VP est effectuée à l'issue du 6e jour.

Les résultats sont consignés d'abord en chiffres de 0 à 5, puis transformés en "profils".

| | SUBSTRAT | OBJET DE LA RECHERCHE | REACTIFS A AJOUTER | REACTIONS | |
|------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------|--------------|------------------|
| | | | | POSITIVES | NEGATIVES |
| ONPG | O.N.P.G. | bêta-galactosidase | néant | JAUNE | INCOLORE |
| ADH | ARGININE | arginine dihydrolase | néant | ROUGE | JAUNE |
| LDC | LYSINE | lysine décarboxylase | néant | ROUGE | JAUNE |
| ODC | ORNITHINE | ornithine décarboxylase | néant | ROUGE | JAUNE |
| CIT | CITRATE de SODIUM | assimilation (Simmons) | néant | BLEU | VERT |
| H ₂ S | THIOSULFATE-FER | H ₂ S | néant | NOIR | INCOLORE |
| URE | UREE | uréase | néant | ROUGE | JAUNE |
| TDA | TRYPTOPHANE | désamination | perchlorure de fer | BRUN | JAUNE |
| IND | TRYPTOPHANE | indole | Kovacs | anneau ROUGE | anneau JAUNE |
| VP | PEPTONE
acide PYRUVIQUE | acétoïne | KOH + α-Naphtol | ROUGE VIF | INCOLORE |
| GEL | GELATINE | protéolyse | néant | DIFFUSION | PAS DE DIFFUSION |
| GLU | GLUCOSE | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| MAN | MANNITOL | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| INO | INOSITOL | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| SOR | SORBITOL | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| RHA | RHAMNOSE | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| SAC | SACCHAROSE | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| MEL | MELIBIOSE | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| AMY | AMYGDALE | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |
| ARA | ARABINOSE | acidification | néant | JAUNE | VERT-BLEU |

2.2.6.4.3. Etude de la croissance à l'aide d'une
 + + + + + + + + + + + + + + + + + + +
 galerie à 50 caractères
 + + + + + + + + + + + + + + + +

L'ensemencement est effectué à l'aide d'une suspension en milieu semi-gélosé de HUTNER + extrait de levure, par remplissage de l'ensemble tube et cupule. L'indicateur coloré est le B.C.P. On recherche surtout la pousse bactérienne à la surface de la cupule, mais les acidifications seront néanmoins consignées. On met en incubation dans une étuve réglée à 30° C, à l'abri de la dessiccation. On lit 24 h, 48 h, 4 jours et 6 jours après. Les résultats sont notés de la même façon que précédemment.

2.2.6.4.4. Exemple de résultat

A titre d'exemple, voici les feuilles de résultats obtenus pour la souche de l'atmosphère J₄₃ que nous avons identifiée comme étant : *Corynebacterium michiganense*.

J₄₃ : Bacille gram positif - fin - grêle
Oxydase = $\ominus$
Catalase = $\boxed{++}$
Nitrate = $\ominus$
Aérobie strict
Fermentatif

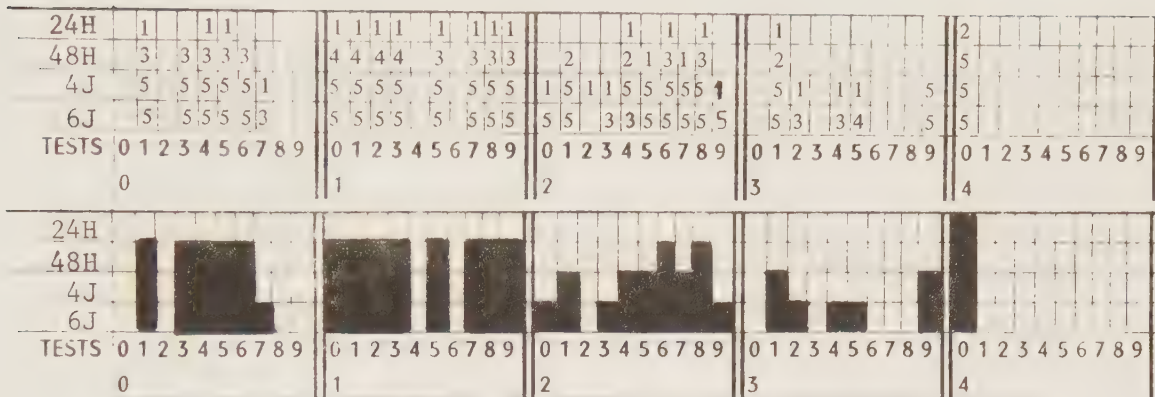
| | ONPG | ADH | LDC | ODC | CIT | H ₂ S | URE | TDA | IND | VP | GEL | GLU | MAN | INO | SOR | RHA | SAC | MEL | AMY | ARA |
|------|------|-----|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 48 H | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 2 | 3 | 3 | 3 | 1 | 3 | 2 | 0 | 3 | 3 |
| 3 J | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 4 | 3 | 4 | 3 | 0 | 4 | 3 | 0 | 3 | 3 |
| 4 J | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | | | | 5 | 3 | 4 | 3 | 0 | 5 | 3 | 0 | 3 | 3 |
| 6 J | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 4 | 4 | 4 | 0 | 5 | 4 | 0 | 4 | 4 |

J 43

[Home](#)
[About Us](#)
[Contact Us](#)
[Privacy Policy](#)
[Terms of Service](#)

- Bouillon HUTNER + Levure

- Acidification



- Gélose HUTNER + Levure

- Croissance



2.2.6.4.5. *Etude de la sensibilité aux antibiotiques*
 +

L'action de 16 antibiotiques a été recherchée sur les souches que nous avons isolées de l'atmosphère :

| NOMS | CONCENTRATION ⁺ |
|----------------------|----------------------------|
| PENICILLINE G | 10 unités |
| AMPICILLINE | 10 μ g |
| AUREOMYCINE | 30 μ g |
| TETRACYCLINE | 30 μ g |
| BACITRACINE | 10 unités |
| CEPHALOTINE | 30 μ g |
| CHLORAMPHENICOL | 30 μ g |
| COLISTINE | 10 μ g |
| DIMETHOXYPENICILLINE | 5 μ g |
| GENTAMYCINE | 10 μ g |
| NOVOBIOCINE | 30 μ g |
| RIFAMYCINE | 30 μ g |
| ERYTHROMYCINE | 15 μ g |
| SPIRAMYCINE | 100 μ g |
| VANCOMYCINE | 30 μ g |
| SULFADIAZINE | 1 mg |

Les bactéries, en culture de 18 heures en milieu liquide, sont ensemencées en nappe après dilution pour obtenir des colonies séparées après l'incubation. Le milieu utilisé est celui de MUELLER-HINTON. L'épaisseur de la couche de gélose doit être égale à 3 mm. Les disques imprégnés d'antibiotiques sont disposés à l'aide d'un distributeur automatique.

 +

Disques BIOMERIEUX

Les zones d'inhibition sont mesurées après 48 h à 30° C.

Les caractères "germe sensible"

ou "germe résistant",

sont attribués selon les spécifications du laboratoire ayant commercialisé les disques.

//////

C H A P I T R E I I I

ANALYSE INFORMATIQUE
=====

3. ANALYSE INFORMATIQUE =====

Les résultats que nous obtenons sont difficilement exploitables si on n'utilise pas un système qui permet rapidement de les comparer entre eux.

C'est la raison pour laquelle nous avons eu recours à l'analyse informatique.

Deux programmes différents ont été utilisés.

3.1. Méthode par Dendrogramme

Il s'agit d'une méthode décrite par JACQ (147). Nous avons à étudier un échantillon de n éléments. Chaque élément est décrit par R variables. L'ensemble de ces informations peut être représenté sous la forme d'une matrice rectangulaire à n lignes et k colonnes.

D'où : $M = nk$

Chaque élément peut être matérialisé par un point situé dans un espace à K dimensions, correspondant aux variables descriptives. Il est alors possible de définir entre ces deux éléments, une relation d'analogie qui permet de les comparer.

Le nuage formé par n éléments est défini par son centre de gravité (Barycentre). Chaque groupe sera ainsi représenté par un point dans l'espace à K dimensions. Les relations d'analogie permettent d'effectuer des comparaisons, elles relèvent de relations de proximité auxquelles correspondent des fonctions variant de zéro à une valeur positive plus ou moins grande ; les fonctions de distance appartiennent à cette catégorie.

La distance utilisée dans ce programme est la distance euclidienne généralisée aux espaces à K dimensions.

La distance entre deux éléments p et q est :

$$Opd = \left[\sum_{i=1}^k (x_{pi} - x_{qi})^2 \right]^{1/2}$$

Le processus de classification est le suivant : le programme procède d'abord à la formation de classes à partir des premiers éléments qui lui sont présentés. Le processus est limité par le nombre de variables qui servent à décrire les éléments et le nombre de groupes à retenir. Dans la première phase, le programme forme n classes à 1 élément. Supposons que le programme ait constitué plusieurs groupes tels que A, B et C. Soit O le nouvel élément à classer. Au cours de la deuxième phase, le programme va calculer la distance de cet élément au groupe le plus proche. Soit G ce groupe et D_{OG} cette distance. D_{AB} étant la distance minimale intergroupe.

Si $D_{OG} < D_{AB}$ le nouvel élément est assigné au groupe C.

Si $D_{OG} > D_{AB}$ A et B fusionnent et O devient l'embryon d'un nouveau groupe.

La recherche du groupe le plus proche nécessite le calcul de la fonction de proximité entre l'élément O et les NG groupes. La recherche de la distance intergroupe minimale implique le calcul d'une matrice triangulaire de :

$$\frac{NG (NG - 1)}{2} \text{ éléments}$$

L'assignation d'un élément à un groupe ou la fusion de deux groupes, entraîne le calcul de nouvelles coordonnées barycentriques ainsi que de nouveaux effectifs.

Au fur et à mesure que le processus se déroule, les groupes grossissent et les déplacements du centre de gravité, provoqués par l'adjonction de nouveaux éléments deviennent de plus en plus faibles.

A partir d'un certain stade, les groupes formés sont relativement stables ; on peut alors admettre que la formation des classes est terminée.

Le processus mis en oeuvre à la fin d'un traitement a pour but l'établissement d'un arbre de classification appelé "dendrogramme". Cet arbre peut mettre en évidence la parenté existant entre les groupes obtenus. A chaque étape de regroupement, les deux groupes les plus proches sont fusionnés jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un groupe unique correspondant à l'ensemble de l'échantillon. En général, la valeur de la fonction de proximité croît à chaque fusion, ce qui donne à l'arbre une structure hiérarchique.

Bien que ce ne soit pas exactement son but, un tel programme peut permettre une identification des souches en incorporant dans un même échantillon, souches inconnues et souches de référence. Il nous paraît surtout utilisable pour essayer de mettre en évidence des filiations entre différentes souches ou espèces isolées dans une atmosphère donnée.

3.2. Méthode par simple enchaînement.

L'algorithme de cette méthode peut être ainsi résumé :

- on dispose de n bactéries
- parmi ces n individus on regroupe les deux bactéries les plus proches. Elles sont alors remplacées par leur point moyen, pondéré par l'effectif résultant du regroupement. On ne dispose donc plus que de $n - 1$ bactéries.
- parmi ces $n - 1$ individus restants, on regroupera les deux plus proches et ainsi de suite jusqu'à épuisement de l'effectif n .

On pourrait arrêter les regroupements quand le nombre de types souhaités est obtenu. En fait, on poursuit les regroupements successifs jusqu'à l'estimation de la "résistance" de la souche considérée. Cette "résistance" est le temps nécessaire à son regroupement avec un autre type. Plus elle est grande, moins les deux souches sont voisines. Cette méthode nécessite, à chaque stade, le calcul de la matrice des quantités de déplacement de tous les points entre eux. Ainsi pour un échantillon de n points,

on devra établir au départ une matrice triangulaire de :

$$\frac{n(n-1)}{2} \text{ cases}$$

Cette lourdeur dans les calculs, limite le nombre des échantillons qui peuvent être traités par cette méthode. Elle présente cependant, un grand intérêt dans la mesure où on ne se pose pas de problèmes d'ordre de présentation des individus. En effet, au moment du regroupement, c'est la quantité minimale de déplacement parmi toutes celles entre les points i et j (i variant de 1 à $(n-1)$ et j de 2 à n) qui est retenue. La formule de la quantité de déplacement est la suivante :

$$q \text{ Di} = n_1 d_1 + n_2 d_2$$

n_1 et n_2 étant les effectifs du groupe qui fusionnent.

d_1 et d_2 étant les distances des points moyens de ces groupes au point moyen du groupe résultant.

Connaissant, à chaque stade, l'importance du déplacement nécessaire au regroupement, nous pouvons représenter sur un même graphique l'évolution de la taille de l'échantillon et celle du nombre de types à chaque stade.

Cette représentation peut être faite sous forme d'un enchaînement entre les diverses souches, la distance entre les diverses arborescences du schéma étant égale à la quantité de déplacement nécessaire pour regrouper deux souches, donc de leur distance taxonomique.



R E S U L T A T S

=====

1. PRESENTATION DES EXPERIENCES.

Les expériences que nous avons effectuées sont d'ordre quantitatif et qualitatif.

1.1. Expériences quantitatives seules.

Elles ont eu lieu uniquement à la station fixe (S.E.P.A.) située au C.R.S.S.A., à l'intérieur de l'Hôpital Desgenettes, à Lyon.

Les prélèvements sont effectués selon un rythme bi-quotidien, en début et en fin de journée.

Les paramètres suivants sont notés ou enregistrés :

- Vent (direction, vitesse)
- Humidité
- Nébulosité
- Visibilité
- SO₂
- Granulométrie des prélèvements.

Nous avons ainsi effectué 50 prélèvements entre le 5/2/74 et le 15/3/74.

1.2. Expériences quantitatives et qualitatives.

Ce sont essentiellement des expériences cycliques de 12 ou 24 heures. Elles permettent de comparer les résultats obtenus à la station fixe (S.E.P.A.) à ceux donnés par le camion laboratoire (C.L.E.P.A.). Celui-ci a été installé dans des lieux spécialement choisis pour leur trafic (Boulevard de Ceinture) ou pour leur emplacement (G.M.R.⁺ 5 en plein centre de Lyon).

⁺ G.M.R. = Groupement de moyens régionaux

Les paramètres météorologiques sont également soigneusement notés ainsi que la granulométrie, mais en plus, le trafic routier est mesuré et les taux de SO_2 , NO , NO_2 sont enregistrés en continu. Enfin les minéraux suivants sont dosés par absorption atomique.

- Sodium
- Potassium
- Magnésium
- Calcium
- Zinc
- Plomb
- Manganèse
- Fer
- Cuivre

Une étude des micromycètes atmosphériques a également été réalisée, en parallèle.

Quatre expériences ont été effectuées les 8/11/1973, 15/11/1973, 22/11/1973, 12/12/1973.

2. LES IDENTIFICATIONS BACTERIOLOGIQUES.

2.1. Résultats globaux.

Au cours de nos 4 séries expérimentales nous avons effectué 126 prélèvements horaires :

- 63 à la S.E.P.A.
- 63 dans le C.L.E.P.A.

La totalité de ces échantillons a étéensemencée avec un inoculum de 0,05 ml après dilution au 1/10 du liquide de prélèvement.

Dans la moitié des cas environ, l'ensemencement a été direct, sans dilution. Après incubation et comptage des colonies les résultats suivants ont été obtenus :

| LIEUX DE
PRELEVEMENT | E C H A N T I L L O N | |
|-------------------------|----------------------------------|---------------|
| | P U R | DILUE AU 1/10 |
| S.E.P.A. | 4825
(1cycle sur 4 seulement) | 9978 |
| C.L.E.P.A. | 7312 | 1721 |
| TOTAL | 12137 | 11699 |

soit un total global de 23 836 colonies isolées.

2.2. Classement morphologique.

Ces souches ont ensuite été classées en fonction de la morphologie des colonies. En cas de similitude une étude rapide des germes permet de conclure.

Deux cent quinze colonies ont été ainsi séparées.

2.3. Diagnostic bactériologique.

2.3.1. Méthodes classiques

Après quelques inévitables recoupements au niveau de l'observation morphologique et la perte de certaines souches particulièrement difficiles à conserver, les 203 souches restantes ont été identifiées à l'aide des méthodes classiques décrites précédemment.

Un nom d'espèce a été attribué dans la majorité des cas. Pour les identifications douteuses ou difficiles, nous nous sommes contentés du diagnostic de genre.

2.3.2. Microméthode sur plaques

Cent cinq souches ont été tirées au sort pour être identifiées par notre microtechnique sur plaques.

Les résultats obtenus nous ont permis, très souvent, de préciser le diagnostic chaque fois que la description donnée dans le *BERGEY'S* le permettait.

2.3.3. Contrôles effectués par l'Institut PASTEUR de PARIS

Le laboratoire du Docteur PIECHAUD a bien voulu contrôler un certain nombre de nos identifications.

C'est ainsi que 26 souches nous sont revenues avec le diagnostic suivant :

| | | | |
|-------|---|-------|--|
| T 31 | <i>Pseudomonas acidovorans</i> | T 21 | <i>Corynebacterium Xerosis</i> |
| G 310 | <i>Pseudomonas Cepacia</i> | G 314 | <i>Moraxella duplex</i>
var. non liquefaciens |
| T 32 | <i>Pseudomonas maltophilia</i> | O 52 | <i>Enterobacter agglomerans</i>
BIOTYPE 1 |
| G 31 | <i>Pseudomonas fluorescens</i>
BIOTYPE B | O 51 | <i>Brevibacterium acetylicum</i> |
| C 23 | <i>Pseudomonas maltophilia</i> | J 23 | <i>Brevibacterium oxydans</i>
(immobile) |
| R 54 | <i>Micrococcus roseus</i> | J 34 | <i>Brevibacterium oxydans</i> |
| J 21 | <i>Micrococcus luteus</i> | T 37 | <i>Neisseria catarrhalis</i> |
| B 56 | <i>Bacillus pumilus</i> | C 44 | <i>Pseudomonas species</i> |
| C 511 | <i>Bacillus</i> du groupe 2
se rapprochant de
<i>B. circulans</i> | R 11 | <i>Bacilles</i> gram positif immobiles
aérobies stricts, catalase
positive à colonies pigmentées |
| O 22 | <i>Corynebacterium aérobie</i>
strict | J 11 | |
| O 21 | <i>Corynebacterium aérobie</i>
strict | O 27 | |
| C 311 | <i>Corynebacterium aérobie</i>
strict | R 13 | |
| | | J 27 | |

2.3.4. Tableaux récapitulatifs

2.3.4.1. *Résultats heure par heure*

Dans les tableaux XXII à XXVIII, nous avons résumé les caractères fondamentaux de nos 203 souches avec les diagnostics obtenus soit à l'aide des techniques classiques, soit par notre microméthode. Dans quelques cas, l'identification suivant l'I.P.P. a été portée. Les abréviations utilisées sont les suivantes :

MOBILITE : P.O. = Polaire
 P.E. = Péritriche

TYPE RESPIRATOIRE :

A.S. = Aérobie strict
A.A. = Aéroanaérobie
M.A. = Microaérophile

TYPE METABOLIQUE :

F = Fermentatif
O = Oxydatif.

2.3.4.2. *Tableau statistique global*

Dans le tableau XXIX, nous avons résumé les pourcentages de bacilles, cocci, coccobacilles, germes gram + , germes gram - , bacilles + , bacillès - , cocci + , coccobacilles - , cocci - , levures et germes aérobies stricts, aéroanaérobie et microaérophiles.

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Nobilitate | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|--------------|------|------------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nad+ | | | | Méthodes classiques | I. P. P. (Institut Pasteur -Paris) | Microméthode | |
| B21 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus Pumilus | | B. pumilus | |
| B22 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. saprophyticus | |
| B23 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Micrococcus | | M. cryophilus | |
| B24 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Micrococcus | | | |
| B32 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. saprophyticus | |
| B33 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. species | |
| B34 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. epidermidis Biotype 4 | |
| B35 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter Calcoaceticus | | | |
| B36 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter Calcoaceticus | | | |
| B37 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. saprophyticus | |
| B39 | Cocci | + | - | + | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | | |
| B310 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. saprophyticus | |
| B312 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. species | |
| B41 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. epidermidis Biotype 4 | |

TAB.ÉAU N° XXII : Caractères de Base et Identification des COLONIES BLANCHES

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | IDENTIFICATION | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|---------------------------------|------------|------------------------------|-----------------|
| | | | | Kovacs | Naga | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| B42 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. epidermidis
Biotype 4 | |
| B43 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | N. species | |
| B44 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium
sp. | | C. species | |
| B52 | Levure | + | | | | | | | | | | |
| B53 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus pumilus | | B. pumilus | |
| B54 | Bacille | - | + | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas
species | | | = C41
etc... |
| B56 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Bacillus pumilus | B. pumilus | B. pumilus | |
| B57 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter
sp. | | A. globiformis | |
| B510 | Bacille | - | + | + | + | + | A.A. | F. | Aeromonas sp. | | A. hydrophila | |
| B511 | Bacille | - | - | + | + | + | A.A. | F. | Aeromonas
Dourgesi | | | = C56 |
| B31 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus
saprophyticus | | | = B32 |
| B38 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus
saprophyticus | | | |
| B45 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Micrococcus
species | | | |

TABLEAU N° XXII : COLONIES BLANCHES

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type
respiratoire | Type
métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques | |
|--------|--------------|------|----------|---------|------|----------|----------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------|-----------|-----------------|
| | | | | Kovacs | Nad+ | | | | Méthodes
classiques | I. P. P. | Microméthode | | |
| C22 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St saprophy-
ticus | | |
| C23 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas Sp. | Pseudomonas
Maltophilia | P. Maltophilia | | =C 36
C 25 |
| C24 | Cocci | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus
freudenreichii | | | | = C 36
C 24 |
| C25 | Cocci | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus
freudenreichii | | | | = C 41
etc.. |
| C31 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas Sp. | | | | |
| C32 | Bacille | - | +
PO | - | + | + | A.S. | O. | Pseudomonas Sp. | | P. Maltophilia | | |
| C33 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas Sp. | | | | = C 41
etc.. |
| C34 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. species | | |
| C35 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella Sp. | | | | |
| C36 | Cocci | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. freuden-
reichii | | = C 24
C 25 |
| C39 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Brevibacterium
sp. | | | | = O 31 |
| C310 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Brevibacterium
sp. | | | | |
| C311 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium
sp. | C. aerobie
strict | C. species | | |

TABLEAU N° XXIII : COLONIES CREME

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|--------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------------|-----------------|------------------------|-----------------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| C312 | Bacille | + | - | + | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium
aérobie strict | | C. species | = C 42
etc |
| C41 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O | Pseudomonas sp. | | P. Maltophilia | = C 41
etc.. |
| C42 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| C43 | Bacille | - | + | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| C44 | Bacille | - | +
PO | + | + | + | A.S. | O | Pseudomonas sp. | Pseudomonas sp. | Ps. acidovorans | |
| C45 | Cocci | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. varians | = G 42 |
| C47 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Micrococcus | | M. species | |
| C51 | Bacille | - | PO
+ | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| C52 | Bacille | - | PO
+ | - | - | + | A.S. | O | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| C53 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| C54 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella sp. | | M. non
liquefaciens | = C 41
etc.. |
| C55 | Bacille | - | PO
+ | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| C56 | Bacille | - | - | + | + | + | A.A. | F. | Aeromonas sp. | | Aeromonas
Dourgesi | = B 511 |

TABLEAU N° XXIII : COLONIES CREME

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|--|---------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| C57 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Bacillus megaterium | | B. megaterium | |
| C58 | Bacille | + | + | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus subtilis | | B. subtilis | |
| C59 | Bacille | + | + | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus pumilus | | B. pumilus | |
| C510 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Bacillus cereus | | B. cereus | |
| C511 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Bacillus circulans | Bacillus groupe 2 se rapprochant de B. circulans | B. circulans | |
| C37 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter globiformis | | | |
| C38 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter globiformis | | | |
| C48 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Micrococcus species | | | = C 47 |

| SOUCHÉ | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | IDENTIFICATION | | | | Remarques |
|--------|------------------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | | |
| | | | | | | | | | | | | | |
| G21 | Bacille | - | + PO | + | + | + | A.A. | F. | Aeromonas | | A. hydrophila | = C 41
etc. | |
| G22 | Bacille | - | + PO | + | + | + | A.S. | Inerte | Pseudomonas sp. | | P. acidovorans | | |
| G31 | Bacille | - | + PO | + | + | + | A.S. | O. | Pseudomonas fluorescens | P. fluorescens biotype B | P. fluorescens biotype II | | |
| G32 | Bacille | - | + PO | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | | |
| G35 | Bacille | - | + PO | - | - | + | A.S. | O. | Xanthomonas sp. | | | = G 49 | |
| G36 | Bacille | - | + PO | - | - | + | A.S. | O. | Xanthomonas sp. | | | | |
| G37 | Bacille | - | + PO | - | - | + | A.S. | O | Xanthomonas sp. | | | | |
| G38 | Bacille | - | + PE | + | - | + | A.S. | Alcali-nisé | Alcaligenes sp. | | A. fecalis | | |
| G39 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella sp. | | M. non liquefaciens | = G 48 | |
| G310 | Bacille | - | + PO | + | + | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | Pseudomonas cepacia | P. cepacia | | |
| G313 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter calcoaceticus | | | | |
| G314 | Bacille + formes cocci | - | - | + | + | - | A.A. | F. | Actinobacillus sp. | | A. species | | |

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|--------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------|------------------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| G315 | Coccobacille | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella sp. | M. Duplex var. non liquefaciens | M. non liquefaciens | = C 45
= J 48 |
| G316 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella sp. | | | |
| G 42 | Cocci | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | | |
| G 43 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | | |
| G 44 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella sp. | | | |
| G 46 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter calcoaceticus | | | |
| G 47 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | Inerte | Moraxella sp. | | M. species | |
| G 48 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter calcoaceticus | | | = G 313 |
| G 49 | Bacille | - | PE + | + | - | + | A.S. | Alcali-nisé | Alcaligenes sp. | | | = G 38 |
| G 51 | Bacille | - | PO + | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc.. |
| G 52 | Bacille | - | PO + | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc. |
| G 53 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Bacilles firmus | | B. firmus | = G 33 |
| G 54 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | Inerte | Bacillus lentus | | B. lentus | |
| G 56 | Levure | + | - | - | - | - | - | - | | | | |
| G 58 | Bacille | + | - | - | + | + | A.S. | F. | Bacillus subtilis | | B. subtilis | |

TABLEAU N° XXIV : COLONIES BEIGE

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|--------------|------|----------|---------|------------------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|----------|------------------------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nad ⁺ | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| G 59 | Bacille | - | PO + | + | + | + | A.S. | O. | Pseudomonas fluorescens | | Ps. fluorescens
Biotype 1 | = G 53 |
| G510 | Bacille | - | PO + | + | + | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = G 313 |
| G511 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Bacillus licheniformis | | | = G 315 |
| G512 | Bacille | - | PO + | + | + | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = G 315 |
| G 33 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Bacillus firmus | | | = G 39 |
| G 34 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter calcoaceticus | | | = G 54 |
| G 23 | Coccobacille | ++ | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella non liquefaciens | | | = G 48 |
| G 24 | Coccobacille | ++ | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella non liquefaciens | | | |
| G 25 | Coccobacille | - | - | + | + | + | A.S. | O. | Moraxella non liquefaciens | | | |
| G311 | Coccobacille | - | - | + | + | ++ | A.S. | Inerte | Moraxella BOVIS | | | |
| G 45 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | Inerte | Bacillus lentus | | | |
| G 55 | Coccobacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Acinetobacter Calcoaceticus | | | |

TABLEAU N° XXIV : COLONIES BEIGE

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type
respiratoire | Type
métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|----------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes
classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| T 11 | Bacille | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium
Sp. | | C. enzymicum | = T 12 |
| T 12 | Bacille | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium
species | | | = T 11 |
| T 24 | Bacille | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium
xerosis | | | = T 21 |
| T 27 | Bacille | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium
xerosis | | | = T 21 |
| T 31 | Bacille | - | + | + | + | + | A.S. | Inerte | Pseudomonas sp. | Pseudomonas
acidovorans | P. acidovorans | |
| T 32 | Bacille | - | + | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | P. Maltophilia | P. Maltophilia | |
| T 33 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus
subtilis | | | = T 52 |
| T 35 | Levure | + | | | | | | | | | | |
| T 37 | Cocci | ++ | - | + | + | + | A.S. | Inerte | Neisseria sp. | N. catarrhalis | Branhamella
catarrhalis | = T 53 |
| T 51 | Bacille | - | + | - | - | + | A.S. | O. | Pseudomonas sp. | | | = C 41
etc... |
| T 52 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus
subtilis | | | = T 33 |
| T 53 | Levure | + | + | | | | | | | | | |
| T 54 | Bacille | + | + | + | + | + | A.S. | F. | Bacillus
subtilis | | | = T 35 |

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|------------|--------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| T 21 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Corynebacterium xerosis | C. Xerosis | | = T 22 |
| T 22 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Corynebacterium xerosis | | | = T 21 |
| T 23 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Corynebacterium xerosis | | | = T 21 |
| T 25 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Corynebacterium striatum | | | |
| T 26 | Bacille | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Corynebacterium striatum | | | |

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|------------|-------------------|----------------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| J 11 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Corynebacterium sp. | | C. insidiosum | = J 12
0 23 |
| J 12 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Corynebacterium sp. | | | = J 11
0 23 |
| J 21 | Cocci | + | - | + | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | M. luteus | M. luteus | |
| J 22 | Cocci | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Neisseria species | | Neisseria species | |
| J 23 | Bacille | + | PE + | - | - | + | A.S. | Fermen-
tatif | Brevibacterium sp. | B. Oxydans | B. oxydans | |
| J 25 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. varians | |
| J 26 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Fermen-
tatif | Corynebacterium sp. | | | = J 27 |
| J 27 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Fermen-
tatif | Corynebacterium sp. | | C. species | = J 26 |
| J 28 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | = J 35 |
| J 31 | Cocci | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Neisseria sp. | | N. subflava | |
| J 33 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. varians | |
| J 34 | Bacille | + | PE + | - | - | + | A.S. | Fermen-
tatif | Brevibacterium sp. | B. Oxydans | B. oxydans | |
| J 35 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | | = J 28 |
| J 36 | Bacille | + | - | + | - | + | A.S. | Fermen-
tatif | Corynebacterium sp. | | C. species | |
| J 37 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |

TABLEAU N° XXVI : COLONIES JAUNE

| SOUCHES | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|---------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|----------|---------------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| J 38 | Cocci | + | + | + | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 39 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | Inerte | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 310 | Bacille | - | + | + | + | + | A.S. | O. | Flavobacterium sp. | | | |
| J 311 | Bacille | - | + | + | + | + | A.A. | O. | Flavobacterium sp. | | | |
| J 313 | Bacille | + | + | + | + | + | A.S. | Fermen-
tatif | Corynebacterium sp. | | C. species | |
| J 314 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 41 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 42 | Cocci | + | + | + | + | + | M.A. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 43 | Bacille | + | + | + | + | + | A.S. | F. | Corynebacterium sp. | | C. Michig-
nense | |
| J 44 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 45 | Cocci | + | + | + | + | + | M.A. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 46 | Bacille | - | + | + | + | + | A.S. | O. | Xanthomonas sp. | | X. Campestris | |
| J 48 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. varians | = G 43 |
| J 51 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | = J 52 |
| J 52 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | = J 51 |
| J 53 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|------------------------------|----------|--------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nad+ | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| J 54 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | = J 43 |
| J 24 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| J 29 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus luteus | | | |
| J210 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium species | | | |
| J 32 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium michiganense | | | |
| J 47 | Bacille | - | +
PO | - | - | + | A.S. | O. | Xanthomonas species | | | |

TABEAU N° XXVI : COLONIES JAUNE

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|-------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|--------------------------------|-------------------|------------------------------|----------------|
| | | | | Kovacs | Nad+ | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| 0 11 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Brevibacterium sp. | | B. linens | |
| 0 21 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Fermen-
tatif | Corynebacterium sp. | C. aérobie strict | C. species | |
| 0 22 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Corynebacterium sp. | C. aérobie strict | C. species | |
| 0 23 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Corynebacterium sp. | | | = J 11
J 12 |
| 0 24 | Bacille | + | - | + | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium Aero-anaérobie | | C. species | = 0 26 |
| 0 25 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium sp. | | C. species | |
| 0 26 | Bacille | + | - | + | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium aéro-anaérobie | | | = 0 24 |
| 0 27 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | F. | Corynebacterium sp. | | C. species | |
| 0 31 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | F. | Brevibacterium sp. | B. Oxydans | B. Oxydans | = C 39 |
| 0 32 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Brevibacterium sp. | | | = R 51 |
| 0 33 | Bacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Flavobacterium sp. | | | |
| 0 34 | Cocci | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. epidermidis
Biotype 4 | |

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type
respiratoire | Type
métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|---------------------------|------|----------|---------|------|----------|----------------------|---------------------|-----------------------------|--|----------------------|-----------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes
classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| 0 36 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Brevibacterium
sp. | | | |
| 0 37 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Inerte | Corynebacterium
sp. | | C. species | |
| 0 38 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter sp. | | A. Citreus | |
| 0 39 | Bacille | + | - | + | - | + | A.S. | O. | Brevibacterium
sp. | | | |
| 0 41 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. luteus | |
| 0 42 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter sp. | | | |
| 0 43 | Levure | + | - | - | - | | | | | | | |
| 0 44 | Bacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Flavobacterium
sp. | | | |
| 0 45 | Bacille | - | - | - | - | + | A.S. | O. | Flavobacterium
sp. | | F. lutescens | |
| 0 51 | Bacille +
formes cocci | + | PE | + | - | - | A.A. | Inerte | Brevibacterium
sp. | Brevib.
ACETYLICUM | B. Acetylicum | |
| 0 52 | Bacille | - | + | - | - | + | A.A. | F. | Enterobactérie | Enterobacter
Agglomerans
biotype 1 | ERWINIA
HERBICOLA | |
| 0 53 | Bacille | - | + | - | - | + | A.S. | O. | Xanthomonas sp. | | X. species | |
| 0 54 | Bacille | + | - | + | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter sp. | | | |
| 0 28 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Arthrobacter
citreus | | | = 0 38 |

TABLEAU N° XXVII : COLONIES ORANGE

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|--------------------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|------------------|-----------------------------|----------|--------------|----------------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| R 11 | Bacille | + | - | - | - | + | A.S. | Alcali-nisat. | Brevibacterium sp. | | B. linens | |
| R 13 | Bacille | + | - | - | - | + | A.A. | F. | Corynebacterium sp. | | C. equi | |
| R 21 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus roseus | | | |
| R 22 | Bacille + formes courtes | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Brevibacterium sp. | | B. species | = R 51
O 32 |
| R 24 | Cocci | + | - | + | - | + | A.S. | O. | Micrococcus roseus | | | |
| R 25 | Levure | + | | | | | | | | | | |
| R 26 | Bacille + formes courtes | + | - | - | - | + | A.S. | Alcali-nisat. | Brevibacterium sp. | | | = R 41 |
| R 31 | Bacille | + | - | + | + | + | A.S. | O. | Brevibacterium sp. | | B. species | |
| R 32 | Bacille + formes courtes | + | - | - | - | + | A.S. | Alcali-nisat. | Brevibacterium sp. | | B. linens | |
| R 33 | Levure | + | | | | | | | | | | |
| R 34 | Cocci | + | - | - | - | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. roseus | |
| R 35 | Bacille + formes courtes | + | - | - | - | + | A.S. | Alcali-nisat. | Brevibacterium sp. | | | |
| R 36 | Levure | + | | | | | | | | | | |
| R 41 | Bacille + formes courtes | + | - | - | - | + | A.S. | Alcali-nisat. | Brevibacterium sp. | | B. linens | = R 26 |

| SOUCHE | MORPHOLOGIE | Gram | Mobilité | OXYDASE | | Catalase | Type respiratoire | Type métabolique | I D E N T I F I C A T I O N | | | Remarques |
|--------|------------------------------|------|----------|---------|------|----------|-------------------|-------------------|-----------------------------|-----------|------------------------------|------------------|
| | | | | Kovacs | Nadi | | | | Méthodes classiques | I. P. P. | Microméthode | |
| R 51 | Bacille | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Brevibacterium sp. | | B. species | = O 32
= R 22 |
| R 52 | Cocci | + | + | + | + | + | A.A. | F. | Staphylococcus | | St. epidermidis
Biotype 4 | |
| R 53 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O. | Micrococcus | | M. roseus | |
| R 54 | Cocci | + | + | + | + | + | A.S. | O | Micrococcus | M. roseus | M. roseus | |
| R 12 | Bacilles +
formes courtes | + | + | + | + | + | A.S. | Alcali-
nisat. | Brevibacterium
linens | | | = R 11 |

TABEAU N° XXVIII : COLONIES ROSE - ROUGE

| COLONIES | TOTAL | BACILLES | COCCI | COCCO- | GRAM + | GRAM - | BACILLES + | BACILLES - | COCCI + | COCCO BACILLES - | LEVURES | COCCI | TYPE RESPIRATOIRE | | |
|-------------|-------|----------|-------|--------|--------|--------|------------|------------|---------|------------------|---------|-------|-------------------|--------|-------|
| | | | | | | | | | | | | | A.S. | A.A. | M.A. |
| BLANCHE | 30 | 10 | 16 | 3 | 23 | 7 | 6 | 4 | 16 | 3 | 1 | 0 | 17/29 | 12/29 | 0/29 |
| BEIGE | 39 | 22 | 2 | 14 | 9 | 30 | 6 | 16 | 2 | 14 | 1 | 0 | 35/38 | 3/38 | 0/38 |
| CREME | 34 | 24 | 8 | 2 | 19 | 15 | 11 | 13 | 8 | 2 | 0 | 0 | 30/34 | 4/34 | 0/34 |
| TRANSLUCIDE | 18 | 15 | 1 | 0 | 14 | 4 | 12 | 3 | 0 | 0 | 2 | 1 | 7/16 | 9/16 | 0/16 |
| JAUNE | 37 | 15 | 22 | 0 | 31 | 6 | 11 | 4 | 20 | 0 | 0 | 2 | 34/37 | 1/37 | 2/37 |
| ORANGE | 26 | 23 | 2 | 0 | 21 | 5 | 18 | 5 | 2 | 0 | 1 | 0 | 20/25 | 5/25 | 0/25 |
| ROSE | 19 | 10 | 6 | 0 | 19 | 0 | 10 | 0 | 6 | 0 | 3 | 0 | 15/16 | 1/16 | 0/16 |
| TOTAL | 203 | 119 | 57 | 19 | 136 | 67 | 74 | 45 | 54 | 19 | 8 | 3 | 158/195 | 35/195 | 2/195 |
| % | | 58,62 | 28,08 | 9,36 | 67 | 33 | 36,46 | 22,16 | 26,60 | 9,86 | 3,94 | 0,98 | 81,02 | 17,96 | 1,02 |

TABEAU N° XXIX : RECAPITULATIF DES DIFFERENTES SOUCHES ISOLEES

2.3.5. Etude détaillée des espèces rencontrées.

Dans ce paragraphe, nous avons effectué une revue systématique des différents genres que nous avons isolés. A l'intérieur de ceux-ci nous avons présenté les espèces rencontrées ainsi que le nombre de souches isolées.

2.3.5.1. *Cocci et coccobacilles gram négatif*

| NOMBRE | GENRE | ESPECE | NOMBRE |
|--------|---------------|--|--------|
| 2 | NEISSERIA | Subflava | 1 |
| | | Species
(voisin de N. sicca) | 1 |
| 1 | BRANHAMELLA | Catarrhalis | 1 |
| 8 | ACINETOBACTER | Calco aceticus | 8 |
| 11 | MORAXELLA | Non liquefaciens | 6 |
| | | Bovis | 1 |
| | | Species
(dont 3 voisins de
non liquefaciens) | 4 |

2.3.5.2. *Bacilles gram négatif*
.....

| NOMBRE | GENRE | ESPECE | NOMBRE |
|--------|----------------|--|--------|
| 25 | PSEUDOMONAS | Maltophilia | 17 |
| | | Acidovorans | 3 |
| | | Fluorescens | 2 |
| | | Cepacia | 1 |
| | | Species | 2 |
| 2 | ALCALIGENES | Fecalis | 2 |
| 5 | FLAVOBACTERIUM | Lutescens | 1 |
| | | Species | 4 |
| 6 | XANTHOMONAS | Campestris | 1 |
| | | Species
(dont 1 très voisin
de Campestris) | 5 |
| 1 | ACTINOBACILLUS | Species
(très voisin de
Lignieresii) | 1 |
| 5 | AEROMONAS | Hydrophila | 2 |
| | | Dourgesi | 2 |
| | | Species | 1 |
| 1 | ERWINIA | Herbicola | 1 |

2.3.5.3. *Cocci gram positif*
.....

| NOMBRE | GENRE | ESPECE | NOMBRE |
|--------|----------------|---|--------|
| 42 | MICROCOCCUS | Cryophilus | 1 |
| | | Varians | 6 |
| | | Freudenreichii | 3 |
| | | Luteus | 18 |
| | | Roseus | 5 |
| | | Species
(dont 6 se rapprochent
beaucoup de
M. candidus)
(BERGEY'S 7e ed.) | 9 |
| 12 | STAPHYLOCOCCUS | Saprophyticus | 7 |
| | | Epidermidis | 5 |

2.3.5.4. *Bacilles gram positif*
.....

| NOMBRE | GENRE | ESPECE | NOMBRE |
|--------|-----------------|---------------|--------|
| 17 | BACILLUS | Pumilus | 4 |
| | | Firmus | 2 |
| | | Lentus | 2 |
| | | Subtilis | 5 |
| | | Licheniformis | 1 |
| | | Megaterium | 1 |
| | | Cereus | 1 |
| | | Circulans | 1 |
| 30 | CORYNEBACTERIUM | Enzymicum | 1 |
| | | Xerosis | 5 |
| | | Striatum | 2 |
| | | Insidiosum | 3 |
| | | Michiganense | 2 |
| | | Equi | 1 |
| | | Species | 16 |
| 8 | ARTHROBACTER | Globiformis | 4 |
| | | Citreus | 2 |
| | | Species | 2 |
| 19 | BREVIBACTERIUM | Oxydans | 3 |
| | | Linens | 6 |
| | | Acetylicum | 1 |
| | | Species | 9 |

3. RESULTATS QUANTITATIFS.

Dans ce paragraphe, nous avons présenté les résultats que nous avons obtenus au cours de nos expériences effectuées, au même moment, à la station fixe et à la station mobile.

Les tableaux XXX à XLII indiquent le nombre de colonies et le nombre de bactéries classées selon leur genre, au cours de chaque expérience selon le lieu et l'ensemencement effectué. Puis deux tableaux XLIII et XLIV présentent un récapitulatif des pourcentages des genres bactériens obtenus.

Dans un deuxième temps nous avons résumé les espèces rencontrées avec leur pourcentage respectif.

Enfin le tableau XLV présente les résultats quantitatifs et, après calcul, la concentration en bactéries par m³ d'air.

3.1. Résultats selon les genres

A la lecture de ces tableaux, on remarque d'emblée la présence continue certains jours, de 1, 2 ou 3 germes. D'autres apparaissent au cours de l'expérience mais de manière sporadique. Les résultats obtenus à la S.E.P.A. sont tout à fait différents de ceux provenant de la station mobile ; les genres dominant à l'une des stations, ne le sont pas à l'autre.

On peut aussi constater, que le chiffre total de bactéries obtenu après dilution au 1/10e est nettement supérieur à celui qui dériverait du chiffre obtenu par l'ensemencement du prélèvement direct.

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 10H | 362 | 202 | 70 | 2 | | | | | | | | 80 | | 10 | | | 200 | | | |
| 11H | 531 | 266 | 400 | | | | 3 | | | | | | 4 | 40 | | | 84 | | | |
| 12H | 582 | 167 | 460 | 10 | | | 2 | | | | 10 | | | 5 | | | 95 | | | |
| 13H | 238 | 108 | 45 | 4 | | | 5 | | | | | | 5 | 61 | | 5 | 113 | | | |
| 14H | 292 | 75 | 20 | 10 | 10 | | 4 | | | | | | 1 | 80 | | 7 | 160 | | | |
| 15H | 287 | 83 | 20 | 20 | 10 | | | | | | | | | 25 | | | 210 | | 2 | |
| 16H | 223 | 68 | 12 | 10 | 20 | | | | | | | | 4 | 60 | | 1 | 116 | | | |
| 17H | 293 | 56 | 39 | 23 | 15 | | | | | | | 1 | | 30 | | 4 | 180 | | | 1 |
| 18H | 179 | 64 | 30 | 5 | | | | | | | | | | 20 | | | 124 | | | |
| 19H | 423 | 79 | 37 | 4 | 10 | | | | | 1 | | | | 10 | | | 360 | | | |
| 20H | 487 | 83 | 13 | | | | | | | | | 60 | | 10 | | 3 | 400 | | 1 | |
| 21H | 362 | 81 | 13 | 12 | | | | | | | 2 | | | 73 | | 2 | 260 | | | |
| 22H | 162 | 33 | 6 | 6 | | | | | | | | | | 40 | | | 110 | | | |
| 23H | 148 | 36 | 3 | 7 | | | | | | | | | | 40 | | | 98 | | | |
| 24H | 256 | 34 | 4 | 80 | | | | | | | 5 | 50 | | 50 | | | 67 | | | |
| TOT | 4825 | 1435 | 1172 | 193 | 65 | | 14 | | | 1 | 5 | 204 | 14 | 554 | | 22 | 2577 | | 3 | 1 |
| % | | | 24,29 | 4 | 1,35 | | 0,29 | | | 0,02 | 0,1 | 4,23 | 0,29 | 11,48 | | 0,46 | 53,41 | | 0,06 | 0,02 |

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 10H | 362 | 202 | | 10 | | | | | | | | 10 | | 170 | | | 2 | 10 | | |
| 11H | 531 | 266 | 9 | | | | | | | | | | 2 | 200 | | | 54 | | 1 | |
| 12H | 582 | 167 | 7 | 10 | | | 3 | | | | | 10 | | 64 | 2 | | 71 | | | |
| 13H | 238 | 108 | 5 | 5 | | | 4 | | | | | 1 | 2 | 50 | | | 37 | 4 | | |
| 14H | 292 | 75 | 5 | 6 | 10 | | 2 | | | | | 2 | 2 | 20 | | | 28 | | | |
| 15H | 287 | 83 | 5 | 10 | 5 | | | | | 1 | | | | 49 | 3 | | 8 | | 2 | |
| 16H | 223 | 68 | 5 | 5 | 4 | | | | | | | | | 30 | | | 24 | | | |
| 17H | 293 | 56 | 1 | 8 | 3 | | | | | | | 5 | | 18 | | | 21 | | | |
| 18H | 179 | 64 | 3 | 2 | | | | | | | | | 3 | 14 | | 2 | 40 | | | |
| 19H | 423 | 79 | 8 | 3 | 10 | | | | | | | 1 | | 37 | | | 20 | | | |
| 20H | 487 | 83 | 5 | 3 | 10 | | | | | | | 4 | | 17 | | 7 | 37 | | | |
| 21H | 362 | 81 | 3 | 2 | | | | | | | | 7 | | 43 | | 1 | 25 | | | |
| 22H | 162 | 33 | 2 | | | | | | | | | | 1 | 11 | | | 19 | | | |
| 23H | 148 | 36 | 4 | 2 | | | | | | | 1 | 3 | | 19 | | | 7 | | | |
| 24H | 256 | 34 | 5 | 7 | | | | | | | 2 | | | 15 | | | 5 | | | |
| TOT | 4825 | 1435 | 67 | 73 | 42 | | 9 | | | 1 | 3 | 43 | 10 | 757 | 5 | 12 | 406 | 4 | 3 | |
| % | | | 4,67 | 5,09 | 2,93 | | 0,63 | | | 0,07 | 0,21 | 3 | 0,69 | 52,75 | 0,34 | 0,84 | 28,29 | 0,27 | 0,22 | |

TABLEAU N° XXXI : RESULTATS S.E.P.A. 8/11/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCCLUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHROBACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|--------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 10H | 123 | 20 | | | | | | | | 10 | | | | 1 | 2 | | 108 | 1 | 1 | |
| 11H | 89 | 24 | | 2 | | 7 | | | | 11 | | | | | | | 65 | | 4 | |
| 12H | 64 | 12 | | | | | | | | 4 | | | 3 | | | | 57 | | | |
| 13H | 36 | 13 | | | | | | | | | 1 | | | | | | 33 | | 1 | |
| 14H | 58 | 43 | | | | | | | | | 4 | | | | | | 14 | 2 | 1 | |
| 15H | 214 | 23 | | | | | | | | | 4 | | 10 | 37 | | | 60 | | | |
| 16H | 150 | 11 | | | | | | | | 12 | | | 60 | 20 | | | 50 | | 90 | |
| 17H | 126 | 22 | 4 | | 5 | | | | | | 1 | | | 110 | | 6 | | | 8 | |
| 18H | 35 | 17 | 5 | | 4 | | | | | | | | 1 | | | 3 | 20 | | 2 | |
| 19H | 53 | 9 | 5 | | 3 | | | | | | | | | 40 | 1 | | 4 | | | |
| 20H | 15 | 5 | 1 | | | | | | | | | | | 2 | 1 | | 10 | | 1 | |
| 21H | 221 | 17 | 1 | | | | | | | | | | 30 | 186 | 4 | | | | | |
| 22H | 51 | 21 | 2 | | | | | | | | | | | 31 | 2 | 4 | 10 | | 2 | |
| 23H | 215 | 11 | 1 | | | 2 | | | | | 6 | | | 203 | | 1 | 2 | | | |
| 24H | 24 | 5 | | | | | | | | 1 | | | | 3 | 1 | | 18 | | 1 | |
| TOT | 1474 | 253 | 19 | 2 | 12 | 9 | | | | 38 | | 16 | 105 | 683 | 11 | 14 | 451 | 3 | 111 | |
| % | | | 1,29 | 0,14 | 0,81 | 0,61 | | | | 2,58 | | 1,09 | 7,11 | 46,34 | 0,75 | 0,95 | 30,60 | 0,20 | 7,53 | |

TABLEAU N° XXXII : RESULTATS C.L.E.P.A. (Bd de Ceinture) 8/11/1973 - PUR - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 10H | 123 | 20 | 2 | | | | | | | 4 | | | | | 4 | | 9 | | 1 | |
| 11H | 89 | 24 | | 5 | | 11 | | | | 3 | | | | 3 | 1 | | 1 | | | |
| 12H | 64 | 12 | 1 | | | | | | | 1 | | | | 1 | | 10 | | | | |
| 13H | 36 | 13 | | | | | | | | | | | | | 1 | 2 | 2 | | 10 | |
| 14H | 58 | 43 | | | | | | | | | | 5 | | | 2 | | 30 | | 6 | |
| 15H | 214 | 23 | | | | | | | | | | 6 | | 2 | | 4 | 3 | 6 | 4 | |
| 16H | 150 | 11 | | | | | | | | | | | | 7 | | 2 | 5 | 1 | 5 | |
| 17H | 126 | 22 | 1 | | 4 | | | | | | | 6 | | 1 | 2 | 2 | 6 | | | |
| 18H | 35 | 17 | 1 | | 2 | | | | | 1 | | | | 1 | | 1 | 3 | | | |
| 19H | 53 | 9 | 3 | | 3 | | | | | | | | | 1 | | 1 | 1 | 1 | | |
| 20H | 15 | 5 | 2 | | | | | | | | | | | 2 | 2 | | 1 | | | |
| 21H | 221 | 17 | 4 | | | | | | | | | | | 2 | 8 | 1 | 1 | | 1 | |
| 22H | 51 | 21 | 8 | | | | | | | | | | 1 | 1 | | 1 | 10 | | | |
| 23H | 215 | 11 | 1 | | | | | | | | | 7 | 2 | | | | 1 | | | |
| 24H | 24 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | 3 | 1 | 1 | |
| TOT | 1474 | 253 | 23 | 5 | 9 | 11 | | | | 7 | | 24 | 3 | 18 | 20 | 11 | 85 | 9 | 28 | |
| % | | | 9,08 | 1,98 | 3,56 | 4,35 | | | | 2,77 | | 9,49 | 1,18 | 7,11 | 7,91 | 4,35 | 33,60 | 3,56 | 11,06 | |

TABLEAU N° XXXIII : RESULTATS C.L.E.P.A. (Bd de Ceinture) 8/11/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHROBACTER | BREVIABACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|-----------------|--------------|
| 9H | 392 | 58 | 2 | | | | | | | | | | | | | 1 | 5 | | | |
| 10H | 560 | 144 | | 7 | | | | 20 | | | | 3 | | | | | 54 | | | |
| 11H | 764 | 181 | 2 | 5 | | | | | | | | | 1 | | | | 70 | | | |
| 12H | 760 | 163 | | | | | | 50 | | | | 3 | | | | | 50 | | | |
| 13H | 708 | 135 | | | | | | 34 | | | | | | | | | 40 | | | |
| 14H | 448 | 136 | 1 | | | | | | | | | 1 | 4 | | | | 110 | | 1 | |
| 15H | 680 | 144 | 8 | | | | | 35 | | | | 26 | 5 | | | | 50 | | | |
| 16H | 400 | 80 | | | | | | 5 | | | | 14 | 6 | | | | 40 | | | |
| 17H | 360 | 120 | 4 | | | | | | 5 | | | 1 | | | | | 70 | | | |
| 18H | 780 | 131 | 4 | | | | | 5 | 16 | | | 15 | | | | | 86 | | | |
| 19H | 684 | 215 | 8 | 2 | | | | 8 | | | | 4 | | | | 2 | 163 | | | 3 |
| 20H | 1448 | 591 | | | | | | | 20 | | | 10 | | | | 1 | 20 | | | |
| 21H | 956 | 361 | 2 | | | | | 30 | 30 | | | 4 | 4 | | | 1 | 50 | 2 | | |
| 22H | 558 | 188 | | | 7 | | | | | | | 33 | 5 | | | 3 | 30 | | | 10 |
| 23H | 798 | 162 | | | | | | | | | | 10 | 10 | | | 2 | 20 | | | 10 |
| 0H | 884 | 158 | | | | | | | | | | 7 | 12 | | | 3 | 29 | | | 5 |
| 1H | 440 | 236 | 1 | 2 | 3 | | | | | | | 4 | | | | 1 | 55 | 4 | | 10 |
| 2H | 712 | 323 | | | 4 | | | | | 2 | | | | | | | 82 | 3 | | |

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 3H | 692 | 155 | | | 5 | | | | | 1 | | 2 | | 111 | | | 33 | | 1 | 2 |
| 4H | 524 | 120 | | | | | | | | | 3 | | | 100 | | | 16 | | | 1 |
| 5H | 948 | 230 | | | | | | | | | | | 15 | 195 | | | 20 | | | |
| 6H | 850 | 131 | | | | | | | | | | 4 | 4 | 110 | | | 12 | | | 5 |
| 7H | 450 | 136 | 1 | | | | | | 10 | | | 4 | | 90 | | | 20 | | | 5 |
| 8H | 456 | 91 | | | | | | | | | | 10 | | 45 | | | 35 | | | 1 |
| 9H | 428 | 137 | | | | | | | | | | 1 | 21 | 80 | | | 30 | | | 5 |
| TOT. | 16680 | 4526 | 33 | 16 | 19 | | | 187 | 81 | 3 | | 159 | 87 | 2667 | | 14 | 1190 | | 13 | 57 |
| % | | | 0,73 | 0,35 | 0,42 | | | 4,13 | 1,79 | 0,07 | | 3,51 | 1,92 | 58,92 | | 0,31 | 26,30 | | 0,29 | 1,26 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

TABEAU XXXIV : RESULTATS S.E.P.A. 15/11/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml (fin..)

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCCLUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHROBACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|-------------|-----------|---------------|--------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 9H | 53 | 14 | | | | | | | | | | 20 | 23 | 5 | | | 5 | | | |
| 10H | 350 | 51 | | | | | | | | | | | 180 | 150 | | | 20 | | | |
| 11H | 275 | 36 | | | | | | | | | | 20 | 102 | 138 | | | 10 | | | 5 |
| 12H | 105 | 17 | | 10 | | | | | | | | 10 | 40 | 30 | | | 15 | | | |
| 13H | 44 | 15 | | 5 | | | | | | | | 5 | | 32 | | | 1 | | | 1 |
| 14H | 89 | 103 | | 10 | 8 | | | | | | | 5 | 20 | 32 | 2 | | 12 | | | |
| 15H | 65 | 27 | | 2 | 3 | | | | | | | 2 | 27 | 15 | | | 16 | | | |
| 16H | 162 | 22 | | 5 | 1 | | | | | | | 5 | 120 | 11 | | | 20 | | | |
| 17H | 84 | 22 | | | 2 | | | | | | | 20 | 20 | 22 | | | 20 | | | |
| 18H | 132 | 66 | | | | | | | | | | 2 | 40 | 50 | 3 | | 37 | | | |
| 19H | 88 | 17 | | | | | | | | | | | 10 | 38 | | 10 | 30 | | | |
| 20H | 82 | 13 | 10 | | | | | | | 2 | | 4 | 12 | 14 | | 5 | 35 | | | |
| 21H | 50 | 19 | 15 | | | | | | | 3 | | 1 | | 3 | | 1 | 10 | 4 | 13 | |
| 22H | 64 | 19 | | | | | | | | | | 1 | 20 | 18 | 2 | 1 | 22 | | | |
| 23H | 122 | 22 | 18 | 1 | 2 | | | | | | | 7 | 20 | 16 | | 1 | 57 | | | |
| 24H | 143 | 18 | 21 | 15 | | | | | | | | 4 | 45 | 46 | | 1 | 11 | | | |
| 1H | 131 | 29 | | | 4 | | | | | | | 8 | 20 | 65 | | | 25 | | | 5 |
| 2H | 118 | 39 | | 3 | 3 | | | | | | | 4 | 45 | 29 | | | 28 | | | |

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRABACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 3H | 116 | 33 | | | | | | | | | | 10 | 40 | 41 | | | | 25 | | |
| 4H | 93 | 20 | | 15 | | | | | | | | 13 | 40 | 20 | | | | 5 | | |
| 5H | 118 | 20 | | 5 | | | | | | | | 8 | 40 | 50 | | | | 15 | | |
| 6H | 154 | 25 | | 10 | | | | | | | | 10 | 60 | 61 | | | | 13 | | |
| 7H | 102 | 10 | 1 | 10 | | | | | | | | 7 | 30 | 46 | | | | 8 | | |
| 8H | 120 | 28 | | 6 | | | | | | | | 5 | 55 | 32 | 2 | | | 20 | | |
| TOT. | 2860 | 685 | 65 | 97 | 23 | | | | | 5 | | 171 | 1009 | 964 | 9 | 29 | 460 | 4 | 24 | |
| % | | | 2,27 | 3,39 | 0,80 | | | | | 0,17 | | 5,98 | 35,28 | 33,72 | 0,31 | 1,01 | 16,09 | 0,14 | 0,84 | |

TABLEAU N° XXXVI : RESULTATS C.L.E.P.A. 15/11/1973 - PUR - - 0,05 ml (fin..)

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 2H | 118 | 39 | | | | | | 5 | | | | 2 | 5 | 1 | 1 | 15 | | | 10 | |
| 3H | 116 | 33 | | | | | | 2 | | | | 1 | 12 | 4 | 1 | | 12 | 1 | | |
| 4H | 93 | 20 | | | | | | | | | | 2 | 7 | 2 | | | 7 | | 1 | 1 |
| 5H | 118 | 20 | | 5 | | | | | | | | | 2 | 5 | | | 4 | | | |
| 6H | 154 | 25 | | | | | | | | 2 | | 2 | 5 | 9 | | | 3 | | | 4 |
| 7H | 102 | 10 | | 1 | | | | | | | | | 1 | 3 | | | 2 | 1 | 2 | |
| 8H | 120 | 28 | 1 | 3 | | | | | | | | 1 | 7 | 10 | | | 6 | | | |
| TOT. | 2860 | 685 | 14 | 28 | 16 | | | 11 | | 9 | 2 | 36 | 89 | 155 | 46 | 27 | 193 | 18 | 29 | 12 |
| % | | | 2,03 | 4,10 | 2,35 | | | 1,60 | | 1,32 | 0,29 | 5,18 | 12,99 | 22,63 | 6,74 | 3,96 | 28,20 | 2,60 | 4,25 | 1,76 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

TABLEAU N° XXXVI : RESULTATS C.L.E.P.A. 15/11/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml (fin...)

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA * | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHROBACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-------------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 9H | 53 | 14 | 6 | | | | | | | | | 4 | 4 | | | | 1 | | | 3 |
| 10H | 350 | 51 | | | | | | | | | 10 | | 2 | 20 | | | 10 | 5 | | |
| 11H | 275 | 36 | 2 | 2 | | | | 1 | | | 2 | | | 28 | 1 | | | | | |
| 12H | 105 | 17 | | 2 | | | | 3 | | | 1 | | | 4 | | | 2 | 5 | | |
| 13H | 44 | 15 | | 1 | | | | | | | 2 | | | 12 | | | | | | |
| 14H | 89 | 103 | | 3 | 5 | | | | | | 1 | | 6 | 6 | 2 | 5 | 72 | 3 | 2 | |
| 15H | 65 | 27 | | | 2 | | | | | | | | 6 | 9 | 4 | | 4 | | | |
| 16H | 162 | 22 | | 1 | 1 | | | | | | | | 6 | 8 | | | 1 | | 1 | 4 |
| 17H | 84 | 22 | | | 3 | | | | | | | | 2 | 7 | | | 10 | | | |
| 18H | 132 | 66 | | | | | | | | | | 1 | 4 | | 28 | | 33 | | | |
| 19H | 88 | 17 | | 4 | 1 | | | | | 2 | | 1 | 1 | 3 | | | 2 | 2 | 1 | |
| 20H | 82 | 13 | | 1 | 2 | | | | | 4 | | | 2 | 1 | | 1 | 2 | | | |
| 21H | 50 | 19 | 1 | 2 | | | | | | 1 | | 3 | 1 | 3 | 4 | | 2 | | 1 | |
| 22H | 64 | 19 | | 3 | | | | | | 1 | 1 | | 4 | 2 | 1 | 1 | 5 | 1 | | |
| 23H | 122 | 22 | 3 | | | | | | | | 1 | 2 | 1 | 4 | | 1 | 10 | | | |
| 24H | 143 | 18 | 1 | | | | | | | | | | 5 | 4 | | 1 | 6 | | 1 | |
| 1H | 131 | 29 | | | 2 | | | | | | | | 6 | 10 | | 1 | | | 10 | |

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 7H | | 132 | | | | | | | | | | | | 72 | | | 60 | | | 18 |
| 8H | | 224 | | | 5 | | | 84 | | | | 3 | | 25 | 1 | | 98 | | | 10 |
| 9H | | 148 | | 10 | | | 1 | 60 | | | | | | 54 | | | 20 | | | 10 |
| 10H | | 102 | | | 7 | | | | | | | 2 | | 50 | | | 25 | | | 10 |
| 11H | | 110 | | 10 | | | | | | | | | | 62 | | | 20 | | | 10 |
| 12H | | 78 | | | 1 | | | | | | | | | 40 | | | 25 | | | 20 |
| 13H | | 105 | | 2 | | | | | | | | 1 | | 50 | | | 22 | | | 13 |
| 14H | | 68 | | 3 | 1 | | | | | | | | | 30 | | 2 | 20 | | | 15 |
| 15H | | 98 | | 3 | 1 | | | | | | | 1 | | 60 | | | 20 | | | 13 |
| 16H | | 85 | | | | | 1 | | | | | | | 60 | | | 20 | | 4 | |
| 17H | | 75 | | | | | | | 1 | | | | | 35 | 2 | | 30 | | 1 | 6 |
| 18H | | 88 | | | | | | | | | | 5 | | 40 | | | 30 | | 2 | 6 |
| 19H | | 69 | | | | | 1 | | | | | 6 | | 25 | 2 | | 35 | | | |
| TOT. | | 1382 | | 25 | 15 | | 3 | 144 | 1 | | | 18 | | 626 | 5 | 15 | 425 | | 7 | 98 |
| % | | | | 1,80 | 1,08 | | 0,22 | 10,43 | 0,06 | | | 1,30 | | 45,31 | 0,36 | 1,08 | 30,71 | | 0,50 | 7,09 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

TABLEAU N° XXXVII : RESULTATS S.E.P.A. 22/11/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies - DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|-----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 7H | 686 | 76 | | | | | | | | | 100 | 586 | | | | | | | | |
| 8H | 182 | 34 | | | | | | | | | 50 | 121 | | | | | 10 | | | 1 |
| 9H | 32 | 11 | | | | | | | | | 20 | | | | 2 | | 10 | | | |
| 10H | 40 | 3 | | | | | | | | | 30 | 8 | | | | 2 | | | | |
| 11H | 18 | 10 | | | | | | | | | 8 | 10 | | | | | | | | |
| 12H | 9 | 1 | | | | | | | | | 4 | 1 | | | | 2 | | | 2 | |
| 13H | 13 | 22 | 8 | | 2 | | | | | | | | | | | | 1 | | 2 | |
| 14H | 30 | 15 | 6 | 1 | 2 | | | 1 | | | 1 | | | | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | |
| 15H | 70 | 67 | 2 | | | | | | | | 1 | | | 30 | 2 | 2 | 23 | 3 | 2 | 5 |
| 16H | 34 | 24 | 5 | 2 | 1 | | | | | | 5 | | | 6 | 5 | 1 | 9 | | | |
| 17H | 63 | 68 | 14 | | | | | 4 | | | 14 | | | | 5 | 6 | 20 | | | |
| 18H | 81 | 30 | | | | | | | | | 51 | | | 5 | | 15 | 10 | | | |
| 19H | 51 | 22 | | 40 | | | | | | | 1 | | | 3 | | 2 | 4 | | 1 | |
| TOT. | 1309 | 383 | 35 | 43 | 5 | | | 5 | | | 285 | | | 770 | 16 | 33 | 91 | 4 | 17 | 5 |
| % | | | 2,67 | 3,29 | 0,38 | | | 0,38 | | | 21,78 | 58,83 | | | 1,22 | 2,52 | 6,95 | 0,30 | 1,30 | 0,38 |

TABLEAU N° XXXVIII : RESULTATS C.L.E.P.A.

(GMR₅)

22/11/1973 - PUR - 0,05 ml

| HERMES | Nombre de colonies - PPR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|-------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 7H | 686 | 76 | | | | | | | | | | 8 | | 65 | | | | | | |
| 8H | 182 | 34 | | | | | | | | | | 9 | | 15 | | 3 | | | | |
| 9H | 32 | 11 | | | 1 | | | | | | | 7 | 1 | | | | 2 | | 1 | |
| 10H | 40 | 3 | | | | | | 2 | | | | 4 | 2 | 3 | | | 1 | | | |
| 11H | 18 | 10 | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | |
| 12H | 9 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 13H | 13 | 22 | 6 | | 2 | | | | | | | 3 | | 4 | 3 | | 6 | 5 | 3 | |
| 14H | 30 | 15 | 2 | 1 | 1 | | | | | | | | | 49 | 1 | 2 | 10 | | 1 | |
| 15H | 70 | 67 | 2 | | | | | | | | | 3 | | 2 | | 1 | 2 | | 4 | |
| 16H | 34 | 24 | 5 | 1 | 3 | | | 1 | | | | 5 | | 2 | | 2 | 39 | | 1 | |
| 17H | 63 | 68 | 4 | 4 | 1 | | | 15 | | | | 2 | | 8 | | 2 | 15 | | | |
| 18H | 81 | 30 | | | | | | 5 | | | | | | | | | | | | |
| 19H | 51 | 22 | | 17 | | | | 3 | | | | 1 | | | | | 1 | | | |
| TOT. | 1309 | 383 | 19 | 23 | 8 | | | 26 | | | | 43 | 3 | 146 | 4 | 10 | 86 | 5 | 10 | |
| % | | | 4,96 | 6 | 2,08 | | | 6,78 | | | | 11,22 | 0,78 | 38,33 | 1,04 | 2,61 | 22,29 | 1,30 | 2,61 | |

TABEAU N° XXXIX : RESULTATS C.L.E.P.A.

(CMR₅)

22/11/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 9H | | 636 | | | | | | 30 | | | | | | 450 | | | 50 | | 6 | |
| 10H | | 422 | 12 | | | | | 20 | | | | 2 | | 328 | | | 60 | | | |
| 11H | | 252 | 11 | | | | | 70 | | | | 1 | | 120 | | | 46 | | 4 | |
| 12H | | 154 | 4 | | | | | 30 | | | | | | 77 | | 3 | 40 | | | |
| 13H | | 140 | 3 | | | | | 10 | | | | | | 107 | | | 20 | | | |
| 14H | | 126 | | | | | | 30 | | | | | | 46 | | | 50 | | | |
| 15H | | 154 | | | | | | 30 | | | | 2 | | 48 | | | 70 | | 4 | |
| 16H | | 108 | 1 | | | | | 15 | | | | | | 51 | | 1 | 36 | | 4 | |
| 17H | | 399 | 2 | | | | | 70 | | | | | | 176 | | 1 | 150 | | | |
| 18H | | 166 | 12 | | | | | 10 | | | | 2 | | 10 | | 2 | 70 | | 60 | |
| 19H | | 78 | 10 | | | | | 5 | | | | | | 22 | | | 41 | | | |
| TOT. | | 2635 | 55 | | | | | 320 | | | | 7 | | 1535 | | 7 | 633 | | 78 | |
| % | | | 2,09 | | | | | 12,14 | | | | 0,27 | | 58,25 | | 0,27 | 24,02 | | 2,96 | |

TABLEAU N° XL : RESULTATS S.E.P.A. 12/12/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 9H | 226 | 21 | | | | | | | | | | 60 | | 50 | | 50 | 16 | | | 50 |
| 10H | 160 | 51 | | | | | | | | | 30 | | | 50 | | 10 | | | | 70 |
| 11H | 100 | 12 | | 3 | | | | | | | 10 | 20 | | 40 | | | 27 | | | |
| 12H | 75 | 14 | | 2 | | | | | | | 8 | 5 | | 55 | | | 5 | | | |
| 13H | 57 | 13 | | 15 | | | | | | | 4 | 3 | | 3 | | | 20 | | | 10 |
| 14H | 101 | 23 | 4 | 10 | | | | | | | 10 | 18 | | 23 | | 1 | 32 | | 3 | |
| 15H | 229 | 24 | | 70 | 7 | | | | | | 30 | | | 45 | | 1 | 35 | | 1 | 40 |
| 16H | 163 | 36 | 2 | | 10 | | | | | | 10 | | | 30 | | 1 | 77 | | 3 | 30 |
| 17H | 131 | 46 | | | 10 | | | | | | 65 | | | 32 | | 3 | 18 | | 3 | |
| 18H | 148 | 62 | | 5 | | | | | | | 30 | | | 32 | | 2 | 30 | 1 | 8 | 40 |
| 19H | 279 | 98 | | 20 | | | | | | | 60 | | | 60 | | 1 | 120 | | | 18 |
| TOT. | 1669 | 400 | 6 | 125 | 27 | | | | | | 317 | 46 | | 420 | | 71 | 380 | 1 | 18 | 258 |
| % | | | 0,36 | 7,49 | 1,62 | | | | | | 18,99 | 2,76 | | 25,16 | | 4,25 | 22,77 | 0,06 | 1,08 | 15,46 |

TABLEAU N° XLI : RESULTATS C.L.E.P.A. (GMR₅) 12/12/1973 - PUR - 0,05 ml

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | Nombre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCCLUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--------|----------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|--------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| 9H | 226 | 21 | | | | | | | | | | 8 | | 8 | | | 5 | | | |
| 10H | 160 | 51 | 4 | 12 | | | | | | | | 6 | | 17 | | | 1 | 11 | | |
| 11H | 100 | 12 | | 6 | | | | | | | | 2 | | | | | | 4 | | |
| 12H | 75 | 14 | | 7 | | | | | | | | 2 | 3 | 2 | | | | | | |
| 13H | 57 | 13 | | 3 | | | | | | | | 3 | | 3 | | | 1 | 3 | | |
| 14H | 101 | 23 | 2 | 2 | | | | | | | | 1 | 1 | 13 | | | | 4 | | |
| 15H | 229 | 24 | 2 | 8 | | | | | | | | 7 | | | | | 1 | 5 | | |
| 16H | 163 | 36 | | 20 | 4 | | | | | | | 10 | | | | | 1 | | 1 | |
| 17H | 131 | 46 | 7 | 5 | 1 | | | | | | | 3 | | 8 | 3 | | | 18 | 1 | |
| 18H | 148 | 62 | 10 | 7 | | | | | | | | 15 | | 8 | | | | 20 | 2 | |
| 19H | 279 | 98 | | 37 | | | | | 15 | | | 10 | | 30 | | | | 5 | 1 | |
| TOT. | 1669 | 400 | 25 | 107 | 5 | | | | 15 | | | 67 | 4 | 89 | 3 | 9 | 70 | | 6 | |
| % | | | 6,25 | 26,75 | 1,25 | | | | 3,75 | | | 16,75 | 1 | 22,25 | 0,75 | 2,25 | 17,5 | | 1,5 | |

TABLEAU N° XLII : RESULTATS C.L.E.P.A. (GMR₅) 12/12/1973 - DILUE 1/10 - 0,05 ml

Nous avons porté dans les deux tableaux suivants les pourcentages des genres obtenus au cours de chaque manipulation ainsi que le pourcentage moyen des 4 expériences effectuées comparativement entre les deux stations de prélèvement.

On constate, de la même manière que précédemment, des différences très nettes. Par exemple, les bacilles gram négatif et les coryneformes sont bien plus nombreux à la station mobile. On remarque l'inverse avec les microcoques.

La composition bactériologique de l'air, au cours de nos expériences, peut s'établir ainsi :

| | |
|--|---------|
| Bacilles gram négatif | 16,92 % |
| Cocci et coccobacilles
gram négatif | 9,26 % |
| Cocci gram positif | 40,33 % |
| Bacillus | 1,95 % |
| Groupe coryneforme | 30,25 % |
| Indéterminés | 1,29 % |
| | ----- |
| | 100 % |

| DATE - LIEU | MOYENNE DU | | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRABACTER | BREVIBACTERIUM | INDETERMINES |
|-------------|----------------|-----------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| | colonies - PUR | colonies -DILUE | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CLEPA SEPA | 322 | | 24,29 | 4 | 1,35 | | 0,29 | | | 0,02 | 0,1 | 4,23 | 0,29 | 11,48 | | 0,46 | 53,41 | | 0,06 | 0,02 |
| | | 96 | 4,67 | 5,09 | 2,93 | | 0,63 | | | 0,07 | 0,21 | 3 | 0,69 | 52,75 | 0,34 | 0,84 | 28,29 | 0,27 | 0,22 | |
| CLEPA | 98 | | 1,29 | 0,14 | 0,81 | 0,61 | | | | 2,58 | | 1,09 | 7,11 | 46,34 | 0,75 | 0,95 | 30,60 | 4,33 | 7,53 | |
| | | 17 | 9,08 | 1,98 | 3,56 | 4,35 | | | | 2,77 | | 9,49 | 1,18 | 7,11 | 7,91 | 4,35 | 33,60 | 3,56 | 11,06 | |
| CLEPA SEPA | 181 | | 0,73 | 0,35 | 0,42 | | | 4,13 | 1,79 | 0,07 | | 3,51 | 1,92 | 58,92 | | 0,31 | 26,30 | | 0,29 | 1,26 |
| | 114 | | 2,27 | 3,39 | 0,80 | | | | | 0,17 | | 5,98 | 35,28 | 33,72 | 0,31 | 1,01 | 16,09 | 0,14 | 0,84 | |
| CLEPA | 27 | | 2,03 | 4,10 | 2,35 | | | 1,60 | | 1,32 | 0,29 | 5,18 | 12,99 | 22,63 | 6,74 | 3,96 | 28,20 | 2,60 | 4,25 | 1,76 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CLEPA SEPA | 106 | | | 1,80 | 1,08 | | 0,22 | 10,43 | 0,06 | | | 1,30 | | 45,31 | 0,36 | 1,08 | 30,71 | | 0,50 | 7,09 |
| | 101 | | 2,67 | 3,29 | 0,38 | | | 0,38 | | | | 21,78 | | 58,83 | 1,22 | 2,52 | 6,95 | 0,30 | 1,30 | 0,38 |
| CLEPA | 29 | | 4,96 | 6 | 2,08 | | | 6,78 | | | | 11,22 | 0,78 | 38,33 | 1,04 | 2,61 | 22,29 | 1,30 | 2,61 | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CLEPA SEPA | 239 | | 2,09 | | | | | 12,14 | | | | 0,27 | | 58,25 | | 0,27 | 24,02 | | 2,96 | |
| | 151 | | 0,36 | 7,49 | 1,62 | | | | | | | 18,99 | 2,76 | 25,16 | | 4,25 | 22,77 | 0,06 | 1,08 | 15,46 |
| CLEPA | 36 | | 6,25 | 26,75 | 1,25 | | | | 3,75 | | | 16,75 | 1 | 22,25 | 0,75 | 2,25 | 17,5 | | 1,5 | |

TABEAU N° XLIII : TABLEAU RECAPITULATIF DES POURCENTAGES

| L I E U | Moyenne du nbre de colonies -DILUE- | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCCLUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHRORACTER | BREVIBACTERIUM | INDEFERMINES |
|--|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|--------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--------------|
| S E P A
(Dilué
1/10) | 155 | 1,87 | 1,81 | 1,10 | 0 | 0,22 | 6,67 | 0,46 | 0,03 | 0,06 | 2,02 | 0,66 | 53,80 | 0,18 | 0,63 | 27,33 | 0,08 | 0,99 | 2,09 |
| CLEPA
(Dilué
1/10) | 27 | 5,58 | 9,71 | 2,31 | 1,08 | 0 | 2,10 | 0,94 | 1,02 | 0,07 | 10,66 | 4 | 22,58 | 4,11 | 3,29 | 25,40 | 1,86 | 4,85 | 0,44 |
| MOYENNE
GLOBALE
SEPA +
CLEPA
(Dilué
1/10) | 91 | 3,72 | 5,76 | 1,70 | 0,54 | 0,11 | 4,39 | 0,70 | 0,52 | 0,06 | 6,35 | 2,33 | 38,19 | 2,14 | 1,95 | 26,36 | 0,97 | 2,92 | 1,29 |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

TABEAU N° XLIV : TABEAU RECAPITULATIF DES POURCENTAGES - MOYENNE DES EXPERIENCES

3.2. Résultats selon les espèces.

Les pourcentages respectifs des différentes espèces à l'intérieur de leur genre ont été calculés d'après les résultats obtenus au niveau de deux stations après ensemencement des prélèvements dilués au 1/10e.

3.2.1. Cocci et coccobacilles gram négatif

100 % des NEISSERIA sont des subflava ; de même 100 % des ACINETOBACTER sont des calcoaceticus et 100 % des BRANHAMELLA sont des catarhalis. Pour les MORAXELLA nous obtenons 46,33 % de non liquefaciens, 6,37 % de bovis, et 47 % de species.

3.2.2. Bacilles gram négatif

Nous nous sommes surtout intéressés au genre PSEUDOMONAS qui présente un grand nombre d'espèces différentes.

Nous avons identifié P. Maltophilia (78,76 %), P. acidovorans (13,90 %), P. fluorescens (2,71 %), P. species (2,70 %) et enfin P. cepacia (1,93 %).

3.2.3. Cocci gram positif

3.2.3.1. Micrococcus

| | | |
|-------------|----------------|---------|
| Micrococcus | Freudenreichii | 80,65 % |
| - | - luteus | 13,65 % |
| - | - roseus | 0,20 % |
| - | - cryophilus | 0,13 % |
| - | - varians | 0,90 % |
| - | - species | 4,47 % |

3.2.3.2. *Staphylococcus*

Pour le genre *Staphylococcus*, nous avons rencontré 73,77 % de *S. saprophyticus* contre 26,23 % de *S. epidermidis*.

3.2.4. Bacilles gram positif

3.2.4.1. *Bacillus*

Là encore, une espèce domine largement les autres : il s'agit de :

| | |
|-------------|---------|
| B. subtilis | 45,22 % |
|-------------|---------|

Les autres *Bacillus* sont représentés par :

| | |
|------------------------|---------|
| B. licheniformis | 18,75 % |
| B. cereus | 11,03 % |
| B. pumilus | 10,30 % |
| B. lentus | 7,35 % |
| B. firmus | 4,04 % |
| B. circulans | 2,94 % |
| et enfin B. megaterium | 0,37 % |

3.2.4.2. Groupe Coryneforme

Pour le genre *Corynebacterium*, il ne nous a pas été possible, dans la plupart des cas, d'identifier les espèces. En conséquence, aucune statistique n'est valable.

Par contre, 64,10 % des *ARTHROBACTER* sont des *A. globiformis* et 5,13 % des *A. citreus*.

Pour les *BREVIBACTERIUM*, nous obtenons les pourcentages suivants :

| | |
|---------------|---------|
| B. linens | 69,62 % |
| B. oxydans | 19,62 % |
| B. acetylicum | 1,27 % |
| B. species | 9,49 % |

3.3. Résultats quantitatifs globaux

3.3.1. Conversion des chiffres obtenus

Nous nous bornerons, ici, à donner sans l'expliquer la formule mathématique qui nous a permis de transformer le nombre des colonies comptées sur nos boîtes en nombre de bactéries par mètre cube d'air. Nous discuterons ultérieurement des différents termes de cette formule :

$$C_{a/m3} = C \times 769$$

dans le cas d'un ensemencement de 0,05 ml de liquide de collecte dilué au 1/10e.

Et :

$$C_{a/m3} = C \times 76,9$$

dans le cas d'un ensemencement de 0,05 ml de liquide pur.

Où : $C_{a/m3}$ = concentration en bactéries par m³ d'air

C = nombre de colonies comptées par boîte de Pétri.

3.3.2. Expériences quantitatives pures

Elles ont eu lieu à la SEPA. Les résultats proviennent de l'ensemencement de 0,05 ml d'inoculum non dilué (TABLEAU N° XLV)

| JOURS | 10 h 15 | | 16 h 15 | |
|-----------|---------|-------------------|---------|-------------------|
| | C | C _{a/m3} | C | C _{a/m3} |
| 5.2.74 | 149 | 11458 | 342 | 26299 |
| 6.2.74 | 119 | 9151 | 519 | 39911 |
| 7.2.74 | 334 | 25684 | 353 | 27145 |
| 8.2.74 | 484 | 37219 | 266 | 20455 |
| 11.2.74 | 269 | 20686 | 129 | 9920 |
| 12.2.74 | 117 | 8997 | 269 | 20686 |
| 14.2.74 | 72 | 5536 | 310 | 23839 |
| 15.2.74 | 171 | 13149 | 280 | 21532 |
| 20.2.74 | 185 | 14226 | 408 | 31375 |
| 21.2.74 | 227 | 17456 | 232 | 17840 |
| 26.2.74 | 519 | 39911 | 445 | 34220 |
| 27.2.74 | 123 | 9458 | 434 | 33374 |
| 28.2.74 | 128 | 9843 | 173 | 13303 |
| 19.2.74 | 515 | 39603 | 366 | 28145 |
| 22.2.74 | 438 | 33682 | Souillé | |
| 1.3.74 | 459 | 35297 | Souillé | |
| 4.3.74 | 544 | 41833 | 188 | 14457 |
| 5.3.74 | 419 | 32221 | 424 | 32605 |
| 6.3.74 | 203 | 15610 | 444 | 34143 |
| 7.3.74 | 181 | 13918 | Souillé | |
| 8.3.74 | 435 | 33451 | 115 | 8843 |
| 11.3.74 | 529 | 40680 | Souillé | |
| 12.3.74 | 188 | 14457 | 232 | 17840 |
| 13.3.74 | 233 | 17917 | 457 | 35143 |
| 14.3.74 | 54 | 4152 | 105 | 8074 |
| 15.3.74 | 169 | 12996 | 429 | 32990 |
| $\bar{x}$ | 279 | 21455 | 315 | 24223 |

Nous pouvons également appliquer cette même formule au nombre moyen de colonies, obtenu au cours de nos expériences cycliques comparatives.

- SEPA - Inoculum pur (1 cycle) :

$$C = 332 \quad C_{a/m3} = 25530$$

- SEPA - Inoculum dilué 1/10

$$C = 155 \quad C_{a/m3} = 119\ 195$$

- CLEPA - Inoculum pur

$$C = 116 \quad C_{a/m3} = 8\ 920$$

- CLEPA - Inoculum dilué 1/10e

$$C = 27 \quad C_{a/m3} = 20\ 763$$

On s'aperçoit immédiatement que le rapport 10 de dilution n'est pas retrouvé après ensemencement.

Il ne varie en effet que de 2,5 à 4,50.

4. PROFIL BIOCHIMIQUE.

Nous envisagerons les acidifications des hydrates de carbone, par les différentes catégories de germes isolées de l'atmosphère, puis par les souches de collection de l'Institut Pasteur de Paris, à l'aide de notre micro-technique sur plaque.

Enfin, nous résumerons les résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques de nos souches atmosphériques.

4.1. Souches isolées de l'atmosphère.

Les tableaux XLVI et XLVII montrent l'action des germes vis à vis de 39 hydrates de carbone et de 12 autres substrats. On remarque que la majorité des bactéries acidifie le glycérol, le ribose, le glucose, le lévulose, le maltose, le saccharose, le tréhalose, le raffinose, le glycogène et le mannose.

On constate, mais à un degré moindre, une action sur la gélatine, le mannitol, le galactose.

| CARACTERES | N° | BACILLES
GRAM
POSITIF | COCCI GRAM
POSITIF | BACILLES
GRAM
NEGATIF | COCCI
COCCOBACILLES
GRAM NEGATIF |
|-------------|----|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|--|
| NO3 | | 6 sur 29 | 13 sur 39 | 11 sur 19 | 4 sur 7 |
| ONPG | | 9 | 10 | 11 | |
| ADH | | | 8 | 10 | |
| LDC | | | | 7 | |
| ODC | | | | 3 | |
| Citrate | | 6 | 5 | 13 | 4 |
| SH2 | | | | | |
| Urée | | 5 | 13 | 3 | 1 |
| TDA | | | | | |
| Indole | | | | 1 | |
| VP | | 9 | 13 | 6 | 1 |
| Gélatine | | 13 | 18 | 15 | 3 |
| Glycérol | 1 | 15 | 20 | 13 | 5 |
| Erythritol | 2 | | 8 | 4 | |
| d-Arabinose | 3 | 4 | 9 | 7 | 3 |
| l-Arabinose | 4 | 12 | 15 | 9 | 1 |
| Ribose | 5 | 21 | 26 | 15 | 3 |
| d-Xylose | 6 | 16 | 15 | 10 | 1 |

| CARACTERES | N° | <u>BACILLES</u>
<u>GRAM</u>
POSITIF | <u>COCCI GRAM</u>

POSITIF | <u>BACILLES</u>
<u>GRAM</u>
NEGATIF | <u>COCCI</u>
<u>COCCOBACILLES</u>
<u>GRAM NEGATIF</u> |
|---------------------|----|---|----------------------------------|---|---|
| L-xylose | 7 | 3 | 7 | 2 | |
| adonitol | 8 | | 4 | 2 | |
| Méthyl-xyloside | 9 | 5 | 3 | | 1 |
| Galactose | 10 | 19 | 27 | 15 | 2 |
| d + glucose | 11 | 28 | 37 | 15 | 6 |
| d - lévulose | 12 | 24 | 25 | 16 | 3 |
| d + mannose | 13 | 21 | 31 | 15 | 3 |
| l - sorbose | 14 | | 1 | | |
| Rhamnose | 15 | 10 | 8 | 7 | |
| Dulcitol | 16 | | 1 | 1 | |
| Méso-inositol | 17 | 7 | 6 | 9 | |
| Mannitol | 18 | 16 | 19 | 9 | 1 |
| Sorbitol | 19 | 6 | 10 | 4 | |
| Méthyl-d-mannoside | 20 | 5 | | 1 | 1 |
| Méthyl-d-glucoside | 21 | 10 | 6 | 9 | |
| l-acétylglucosamine | 22 | 6 | 15 | 11 | 3 |
| Amygdaline | 23 | 5 | | 7 | 1 |
| Arbutine | 24 | 10 | 2 | 7 | 1 |
| Esculine | 25 | 16 | 6 | 9 | 1 |
| Salicine | 26 | 13 | 10 | 9 | 2 |
| d + cellobiose | 27 | 16 | 12 | 10 | 2 |
| Maltose | 28 | 19 | 35 | 11 | 4 |
| Lactose | 29 | 9 | 11 | 9 | |
| d + mélibiose | 30 | 7 | 7 | 13 | |
| Saccharose | 31 | 20 | 35 | 15 | 3 |

| CARACTERES | N° | <u>BACILLES</u>
<u>GRAM</u>
POSITIF | <u>COCCI GRAM</u>
POSITIF | <u>BACILLES</u>
<u>GRAM</u>
NEGATIF | <u>COCCI</u>
<u>COCCOBACILLES</u>
GRAM NEGATIF |
|----------------|----|---|------------------------------|---|--|
| d + tréhalose | 32 | 15 | 32 | 15 | 2 |
| Inuline | 33 | 2 | | 2 | 1 |
| d + mélézitose | 34 | 10 | 15 | 3 | 2 |
| d + raffinose | 35 | 21 | 34 | 13 | 5 |
| dextrine | 36 | 6 | 5 | 5 | 3 |
| Amylose | 37 | | | | |
| Amidon | 38 | 6 | 4 | 6 | 2 |
| Glycogène | 39 | 21 | 26 | 15 | 5 |

TABLEAU N° XLVI : ACTION RESUMEE des genres bactériens
sur 51 substrats

| CARACTERES | N° | <u>BACILLUS</u> | | |
|---------------------|----|-----------------|--|--|
| NO3 | | 4 sur 11 | | |
| ONPG | | 7 | | |
| ADH | | 1 | | |
| LDC | | | | |
| ODC | | | | |
| Citrate | | 6 | | |
| SH2 | | | | |
| Urée | | 1 | | |
| TDA | | | | |
| Indole | | | | |
| VP | | 8 | | |
| Célatine | | 9 | | |
| Glycérol | 1 | 11 | | |
| Erythritol | 2 | 2 | | |
| d-Arabinose | 3 | 4 | | |
| l-Arabinose | 4 | 8 | | |
| Ribose | 5 | 10 | | |
| d-Xylose | 6 | 8 | | |
| L-Xylose | 7 | 4 | | |
| adonitol | 8 | 3 | | |
| Méthyl-xyloside | 9 | 3 | | |
| Galactose | 10 | 7 | | |
| d + glucose | 11 | 10 | | |
| d - lévulose | 12 | 9 | | |
| d + mannose | 13 | 7 | | |
| l - sorbose | 14 | | | |
| Rhamnose | 15 | 4 | | |
| Dulcitol | 16 | 2 | | |
| Méso-inositol | 17 | 4 | | |
| Mannitol | 18 | 8 | | |
| Sorbitol | 19 | 4 | | |
| Méthyl-d-mannoside | 20 | 4 | | |
| Méthyl-d-glucoside | 21 | 5 | | |
| l-acétylglucosamine | 22 | 10 | | |
| Amygdaline | 23 | 8 | | |

| CARACTERES | N° | <u>BACILLUS</u> | | |
|----------------|----|-----------------|--|--|
| Arbutine | 24 | 8 | | |
| Esculine | 25 | 8 | | |
| Salicine | 26 | 10 | | |
| d + cellobiose | 27 | 11 | | |
| Maltose | 28 | 7 | | |
| Lactose | 29 | 6 | | |
| d + mélibiose | 30 | 7 | | |
| Saccharose | 31 | 9 | | |
| d + tréhalose | 32 | 10 | | |
| Inuline | 33 | 3 | | |
| d + mélèzitose | 34 | 1 | | |
| d + raffinose | 35 | 10 | | |
| dextrine | 36 | 7 | | |
| Amylose | 37 | | | |
| Amidon | 38 | 6 | | |
| Glycogène | 39 | 8 | | |

TABLEAU N° XLVII : Action résumée des Bacillus
sur 51 substrats.

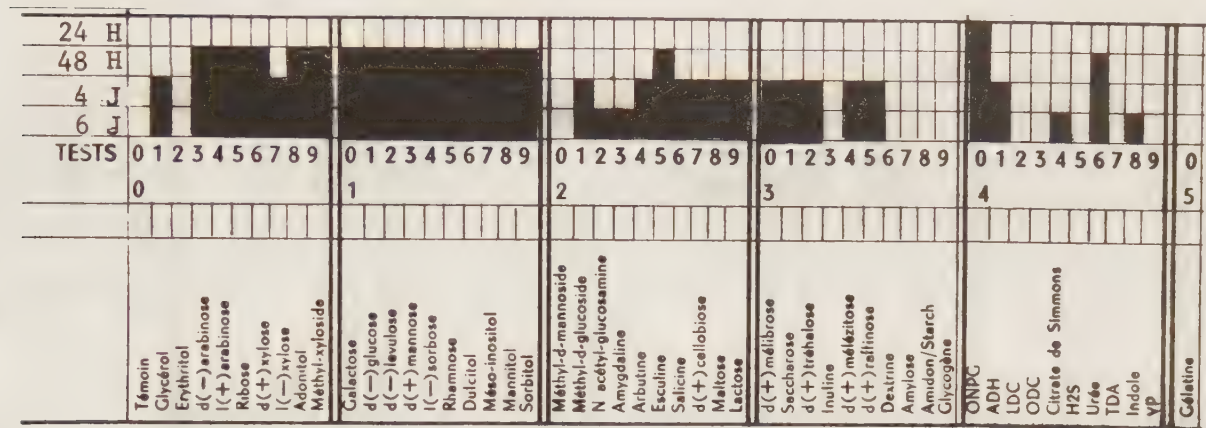
4.2. Les souches de collection ⁺

| NOM DES SOUCHES MICROBIENNES | N° de la Collection |
|------------------------------|---------------------|
| ALCALIGENES FECALIS | 5758 |
| MORAXELLA GLUCYDOLYTICA | 5290 |
| CHROMOBACTERIUM VIOLACEUM | 532 |
| AGROBACTERIUM TUMEFACIENS | 671 |
| SARCINA LUTEA | 5345 |
| BREVIBACTERIUM LINENS | 6312 |
| XANTHOMONAS VASCULORUM | 6372 |
| MICROCOCOCCUS DENITRIFICANS | 7111 |
| NEISSERIA CATARRHALIS | A 151 |
| NEISSERIA SICCA | 52183 |
| CORYNEBACTERIUM XEROSIS | 5216 |

⁺
 Nous remercions l'INSTITUT PASTEUR de PARIS (Service Dr PIECHAUD)
 d'avoir bien voulu nous faire parvenir certaines souches de sa collection
 pour mettre au point notre microtechnique.

4.2.4. ACROBACTERIUM TUMEFACIENS (671)

Bacille gram négatif, aérobie strict, mobile par ciliature péritriche ; nitrate, oxydase, indole, catalase positives. Oxydatif.



On remarque l'extraordinaire activité biochimique de cette souche. La 7e édition précise les caractères suivants :

| SUCRES | 7e Edition
BERGEY'S | MICROM. |
|-----------|------------------------|---------|
| Amidon | — | — |
| Glucose | + | + |
| Fructose | + | + |
| Arabinose | + | + |
| Galactose | + | + |
| Mannitol | + | + |
| Salicine | + | + |

4.3. Sensibilité aux antibiotiques.

Nous pouvons remarquer, en considérant les tableaux XLVIII à LV que certaines souches atmosphériques présentent une résistance caractéristique aux antibiotiques. Si on considère par exemple les PSEUDOMONAS, la souche C₄₄, P. acidovorans, les 2 souches de P. fluorescens (G₃₁ - G₅₉), les souches à colonies translucides de P. acidovorans et P. maltophilia (contrôlées à l'I.P.P.) sont très résistantes.

En revanche, les autres souches de P. maltophilia, aux colonies de couleur crème (C₂₂, C₃₂, C₄₁) sont très sensibles à ces mêmes antibiotiques.

Les BACILLUS présentent également une forte résistance aux antibiotiques :

7 sur 11 sont résistants à la bacitracine, et, 6 sur 11, le sont à la pénicilline et à la colimycine. Quant aux MICROCOQUES, ils sont très sensibles à la novobiocine. Par contre 11 souches sur 29 sont résistantes au chloramphénicol et 10 à la sulfadiazine.

Les STAPHYLOCOQUES sont tous résistants à la colimycine. De même, 5 souches sur 5 de S. épidermidis sont sensibles à la novobiocine ; les 5 souches de S. saprophyticus sont résistantes. Par ailleurs on note que :

- 8 souches sur 10 sont résistantes à la pénicilline,
- 7 sur 10 aux Sulfamides,
- 6 sur 10 à l'ampicilline, chloramphénicol, et auréomycine,
- 5 sur 10 à la diméthoxy pénicilline, bacitracine et érythromycine.

Au niveau du groupe CORYNEFORME, 11 souches sur 17 de CORYNEBACTERIUM sont résistantes à la colimycine, et 8 à la diméthoxy pénicilline.

Chez les BREVIBACTERIUM, 6 sur 10 sont résistants à la diméthoxy-pénicilline dont les 4 souches de B. oxydans. Les résultats sont identiques vis à vis de la colimycine et enfin 8 souches sur 10 sont résistantes à la sulfadiazine.

| Colonies
Anti-
biotiques | C ₂₃ | C ₃₂ | C ₄₁ | C ₄₄ | | G ₂₂ | G ₃₁ | G ₃₁₀ | G ₅₉ | T ₃₁ | T ₃₂ | | | | | | | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PENICILLINE | | | | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| DIMETHOXY
PENICILLINE | | | | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| AMPICILLINE | | | | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| CEPHALOTINE | | | | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| GENTAMYCINE | | | | | | | | | | R | R | | | | | | | | |
| CHLORAMPHENICOL | | | | | | | R | | R | R | | | | | | | | | |
| TETRACYCLINE | | | | | | | | | R | R | R | | | | | | | | |
| COLISTINE | | | | R | | | | | | R | | | | | | | | | |
| AUREOMYCINE | | | | | | | | | | R | R | | | | | | | | |
| VANCOMYCINE | | | | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| NOVOBIOCINE | | | | | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| SPIRAMYCINE | | | | | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| BACITRACINE | | | | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| SULFADIAZINE | | | | R | | | R | | R | | R | | | | | | | | |
| ERYTHROMYCINE | | | | | | | R | | R | R | R | | | | | | | | |
| RIFAMYCINE | | | | | | | R | | | R | | | | | | | | | |

TABLEAU N° XLVIII : P S E U D O M O N A S

| Colonies
anti-
biotiques | C ₅₄ | G ₃₉ | G ₃₁₅ | G ₄₇ | J ₂₂ | J ₃₁ | T ₃₇ | <div>LEGENDE</div> <div>R = Résistant</div> <div>Case vide = Sensible</div> | | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---|--|--|--|
| | | | | | | | | | | | |
| ENICILLINE | | | | | | | | | | | |
| IMETHOXY
ENICILLINE | | | | | R | | R | | | | |
| MPICILLINE | | | | | R | | | | | | |
| EPHALOTINE | | | | | | | | | | | |
| ENTAMYCINE | | | | | | | | | | | |
| HLORAMPHENICOL | | | | | | | | | | | |
| ETRACYCLINE | | | | | | | | | | | |
| OLISTINE | | | | | R | | | | | | |
| UREOMYCINE | | | | | | | | | | | |
| ANCOMYCINE | | | R | | | | | | | | |
| OVOBIOCINE | | | | | | | | | | | |
| PIRAMYCINE | | | | | | | | | | | |
| ACITRACINE | | | | | | | | | | | |
| ULFADIAZINE | | | | | R | R | R | | | | |
| RYTHROMYCINE | | | | | | | | | | | |
| IFAMYCINE | | | | | | | | | | | |

BRANIAMELLA

NEISSERIA

MORAXELLA

TABEAU N° XLIX :

| Colonies
Anti-
biotiques | | B ₂₁ | B ₅₃ | B ₅₆ | G ₅₃ | G ₅₄ | G ₅₈ | C ₅₇ | C ₅₈ | C ₅₉ | C ₅₁₀ | C ₅₁₁ | </ |
|--------------------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|----|
|--------------------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|----|

TABLEAU N° LI : B A C I L L U S

| Colonies
Anti-
biotiques | B ₂₃ | B ₃₃ | B ₃₁₂ | B ₄₃ | C ₃₄ | C ₃₆ | C ₄₅ | C ₄₇ | J ₂₁ | J ₂₄ | J ₂₅ | J ₂₈ | J ₃₃ | J ₃₇ | J ₃₈ | J ₃₉ | J ₃₁₄ | J ₄₁ | J ₄₂ | J ₄₈ | J ₅₁ |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| PENICILLINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| DIMETHOXY
PENICILLINE | | R | | R | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AMPICILLINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CEPHALOTINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GENTAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CHLORAMPHENICOL | R | | | | | | | | R | R | | | | R | R | | | R | R | | R |
| TETRACYCLINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| COLISTINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| LAUREOMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| VANCOMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NOVOBIOCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SPIRAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| BACITRACINE | R | | | R | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SULFADIAZINE | | | | R | | | | | | R | | | | R | R | | R | R | | R | R |
| ERYTHROMYCINE | | R | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RIFAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

LEGENDE

R = Résistant

Case vide = Sensible

TABLEAU N° LII : MICROCOQUES (I)

| Colonies
Anti-
biotiques | B ₂₂ | B ₃₂ | B ₃₇ | B ₃₁₀ | C ₂₂ | B ₃₄ | B ₄₁ | B ₄₂ | O ₃₄ | R ₅₂ | | | | | | | | | |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| PENICILLINE | R | R | | | R | R | R | R | R | R | | | | | | | | | |
| DIMETHOXY
PENICILLINE | R | R | | | | R | | R | | R | | | | | | | | | |
| AMPICILLINE | R | R | | | R | R | | R | R | | | | | | | | | | |
| CEPHALOTINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| PENTAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| HLORAMPHENICOL | R | R | | | | R | R | R | R | | | | | | | | | | |
| TETRACYCLINE | R | R | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| COLISTINE | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | | | | | | | | | |
| UREOMYCINE | R | R | | | | R | R | R | R | | | | | | | | | | |
| ANCOMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| NOVOBIOICINE | R | R | R | R | R | | | | | | | | | | | | | | |
| PIRAMYCINE | R | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ACITRACINE | R | R | R | | | R | | R | | | | | | | | | | | |
| ULFADIAZINE | R | R | R | | | R | | R | R | R | | | | | | | | | |
| ERYTHROMYCINE | R | R | | | | R | | R | R | | | | | | | | | | |
| IFAMYCINE | R | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

LEGENDE

R = Résistant

Case vide = Sensible

| Colonies
Anti-
biotiques | B ₄₄ | C ₃₁₁ | C ₃₁₂ | J ₁₁ | J ₂₇ | J ₃₆ | J ₃₁₃ | J ₄₃ | T ₁₁ | O ₁₁ | O ₂₁ | O ₂₂ | O ₂₄ | O ₂₅ | O ₂₇ | O ₃₇ | R ₁₃ | | | |
|--------------------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--|--|--|
| PENICILLINE | | | | | | | | | R | | | | | | | | | | | |
| DDIMETHOXY
PENICILLINE | | R | | | | R | R | R | R | | | | R | | R | | R | | | |
| AMPICILLINE | | | | | | R | R | | R | | | | | | | | | | | |
| CEPHALOTINE | | | | | | | | | R | | R | | | | | | | | | |
| GENTAMYCINE | | | | | | | | R | | | | | | | | | | | | |
| CHLORAMPHENICOL | | R | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| TETRACYCLINE | | | | | | | | | | | | | R | | | | | | | |
| COLISTINE | R | R | | R | | R | R | R | R | R | R | R | R | | R | | | | | |
| AUREOMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| VANCOMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | R | | | | |
| NOVOBIOCINE | R | | | | | | | | | | | | | | | R | R | | | |
| SPIRAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | R | | | | |
| BACITRACINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SULFADIAZINE | | | | | | R | R | | | | R | | R | | R | R | | | | |
| ERYTHROMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RIFAMYCINE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

LEGENDE

R = Résistant

Case vide = Sensible

TABEAU N° LIV : C O R Y N E B A C T E R I U M

5. RESULTATS DONNES PAR L'INFORMATIQUE.

Nous avons soumis 81 de nos souches à une analyse multidimensionnelle. Dans ce but, nous avons étudié séparément les cocci gram positif, les bacilles gram positif et les bacilles gram négatif oxydase positive.

Nous avons étudié chacun de ces groupes en fonction des critères de fermentation et de croissance, sauf les cocci gram positif dont les résultats sont suffisants dès l'acidification.

5.1. Etude des souches bactériennes.

5.1.1. Bacilles gram négatif - oxydase positive

Sur les 17 souches analysées, 5 d'entre elles avaient été vérifiées, quant à leur diagnostic, par l'Institut Pasteur de Paris. Les résultats figurent dans les tableaux LVI et LVII.

A l'aide des caractères d'acidification, nous remarquons la présence d'un groupe central constitué de 4 souches de *Pseudomonas maltophilia*. Assez voisins, mais cependant nettement différents, se trouvent 3 souches : 2 de *Pseudomonas acidovorans*, la troisième, C₄₄, identifiée comme *Pseudomonas species*, pouvant donc être rattachée à *P. acidovorans*.

On note aussi que les 2 souches de *Pseudomonas fluorescens* sont bien regroupées mais distinctes de *P. Maltophilia* et *P. acidovorans*.

De même, *Pseudomonas cepacia* est un groupe bien distinct des 3 autres déjà vus.

Sur les chaînes latérales, on remarque, très éloignés les uns des autres, les groupes suivants :

- *Alcaligenes Fecalis*,
- *Moraxella non liquefaciens*,
- 2 souches de *Moraxella species* très proches donc vraisemblablement identiques,

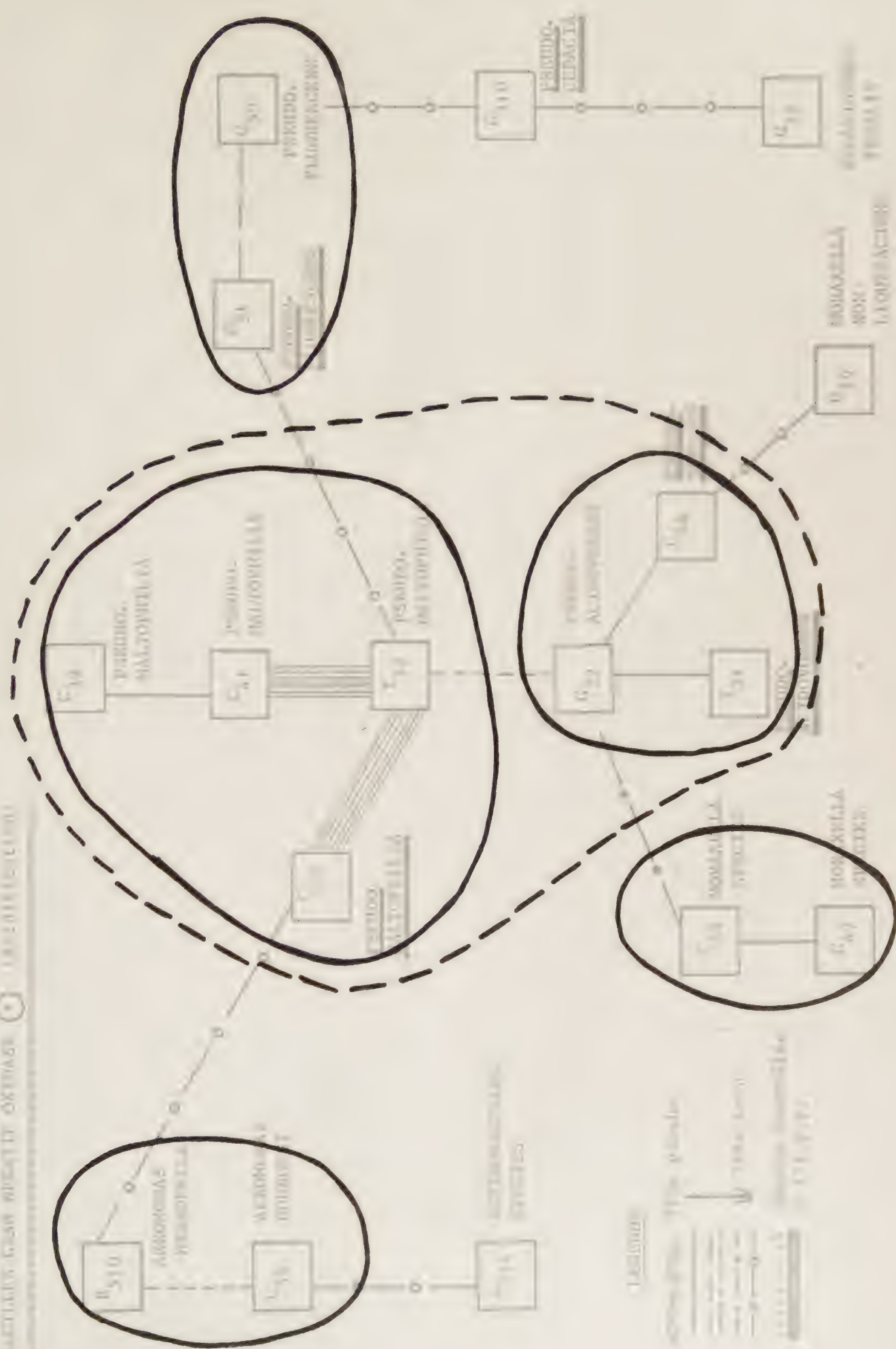
- 2 souches de *Aeromonas* (*hydrophila* et *Dourgesi*) assez proches l'une de l'autre,
- et enfin, *Actinobacillus*.

Dans un second temps, nous avons essayé de préciser ces résultats, mais en utilisant les critères de croissance.

Dans ce cas le programme s'est avéré décevant, car moins sélectif dans la séparation des espèces. En effet, dans le groupe central, nous relevons mélangés cette fois, les groupes *P. Maltophilia*, *acidovorans* et les 3 *MORAXELLA*.

Par contre les 2 *AEROMONAS* sont regroupés ainsi que les 2 *PSEUDO-MONAS fluorescens*.

P. fluorescens, *P. cepacia*, *A. fecalis*, *Aeromonas* et *Actinobacillus* forment des ensembles ou des unités distincts.

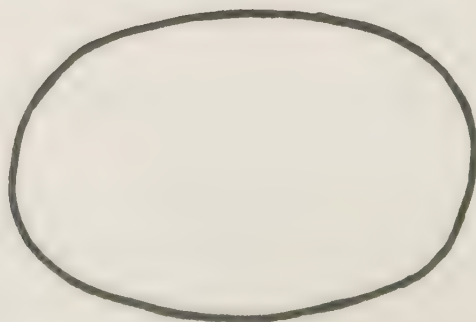


2. The following are the results of the analysis of variance:

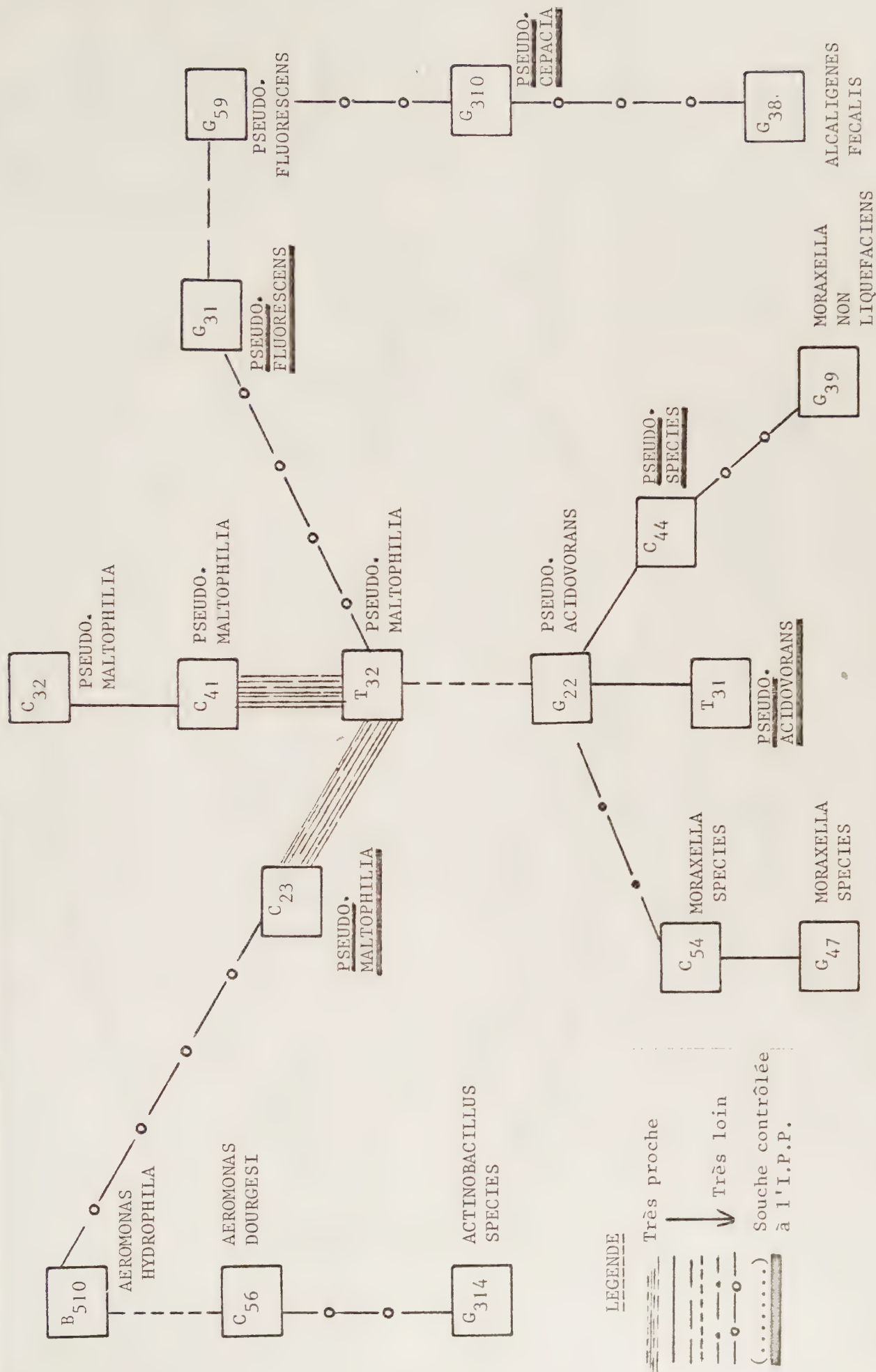
En fait, le général Sauer, dans ses conclusions de police, a des résultats, mais ne mentionne pas les résultats de renseignement.

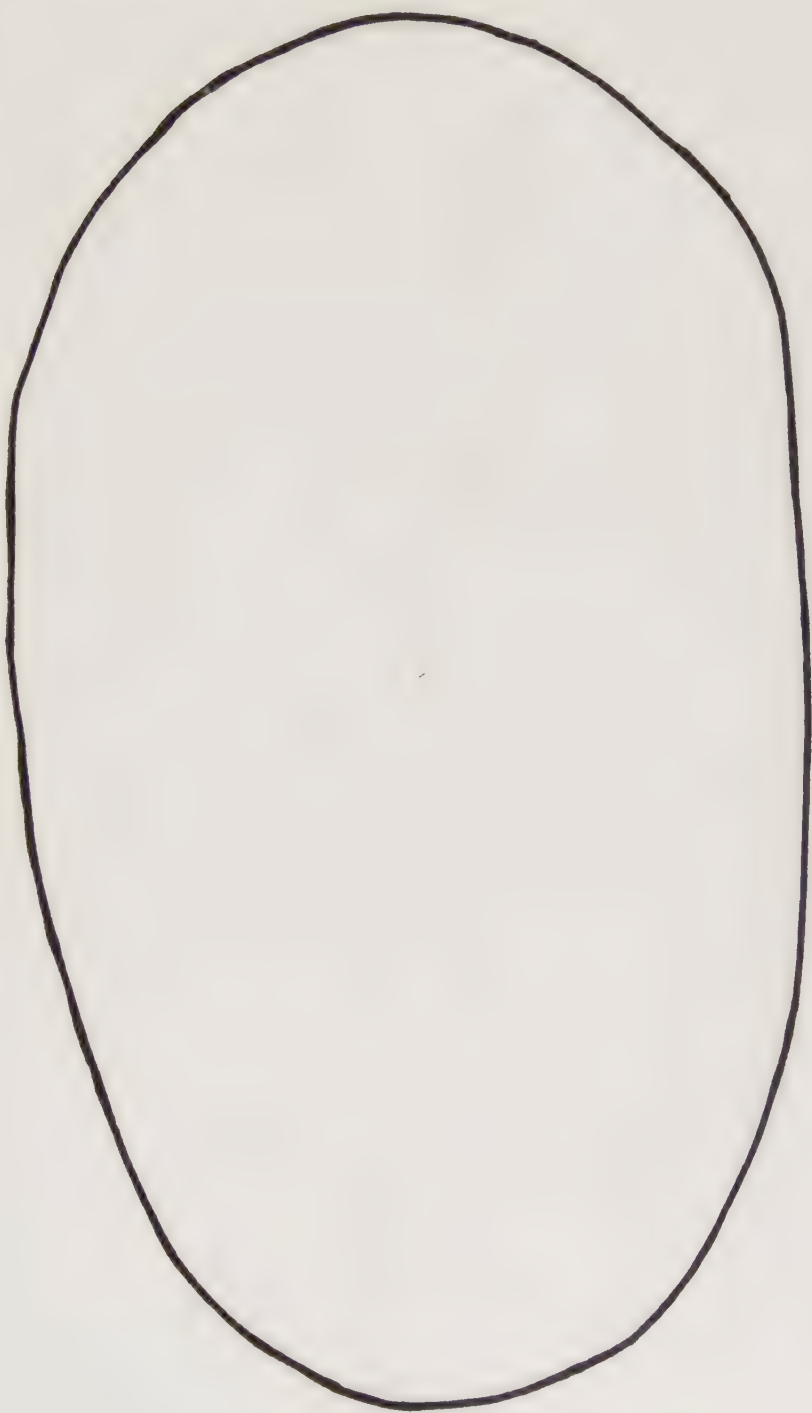
Donc le but de ce programme d'art est de donner, par un art éminent,
une élite intellectuelle, une élite, dans le grand sens, une élite
intellectuelle, une élite, les groupes d'élites, d'élites et de l'

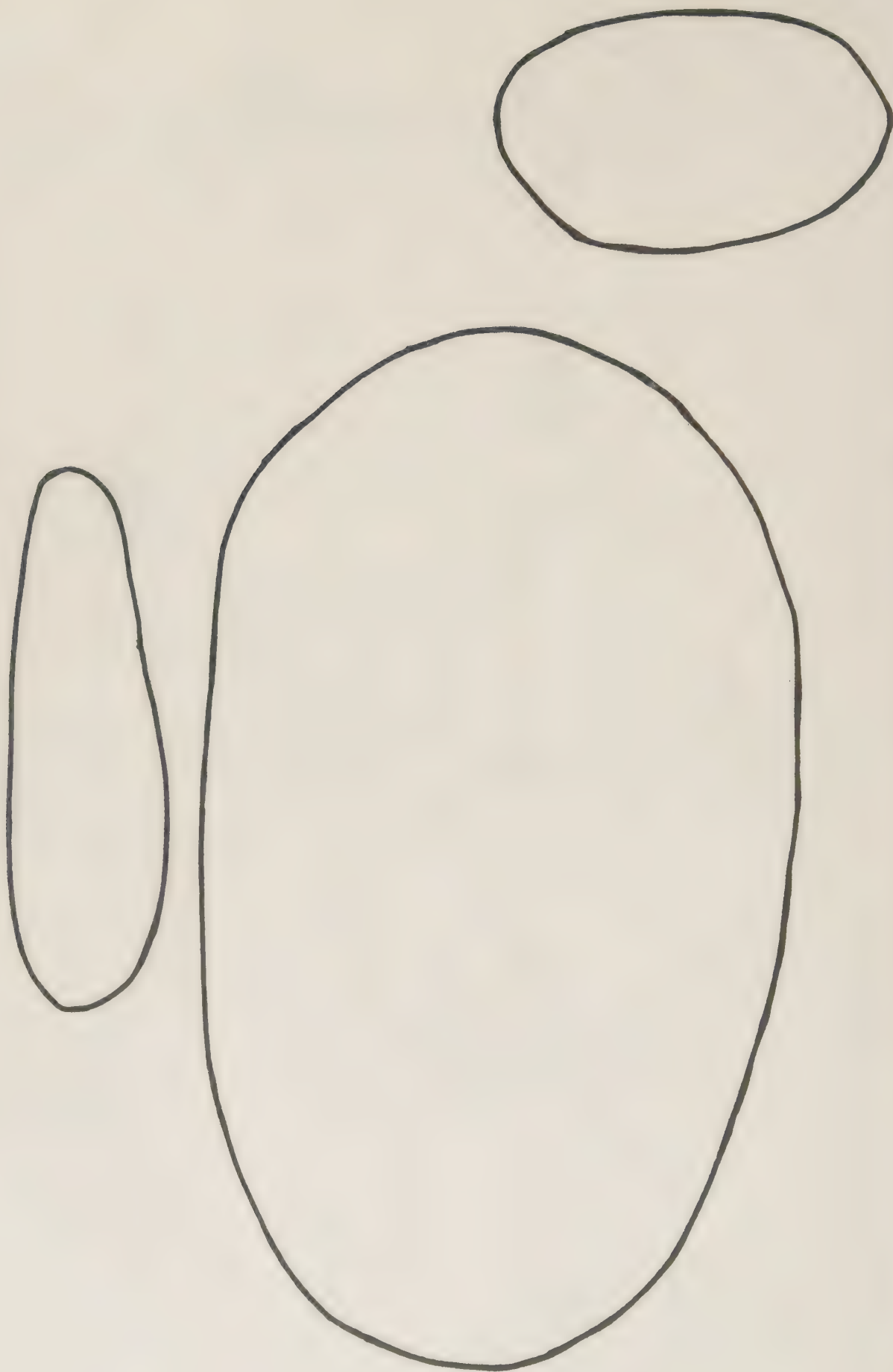
THE UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE
WASHINGTON, D. C.

[illegible]

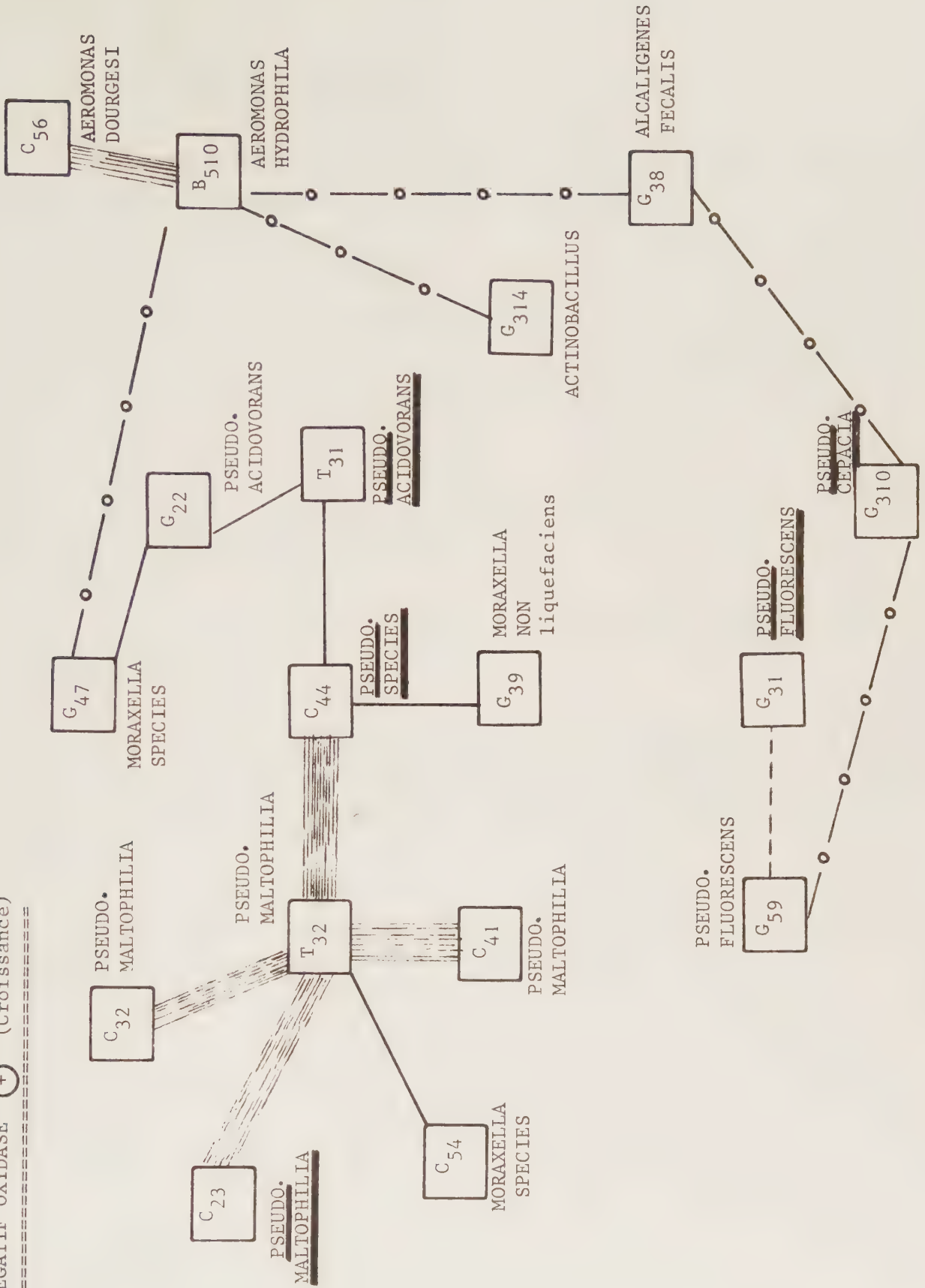
Regroupement informatique des
BACILLES GRAM NEGATIF OXYDASE (+) (Acidification)







Regroupement informatique des
BACILLES GRAM NEGATIF OXYDASE
+ (Croissance)



Même Légende
que page 265

5.1.2. Bacilles gram positif

Vingt-huit souches, volontairement choisies de manière disparate ont été soumises à l'analyse :

- Bacillus
- Brevibacterium
- Corynebacterium
- Arthrobacter.

Huit ont été contrôlées par l'Institut Pasteur de Paris et nous ont servi de "traceur" (Tableaux LVIII et LIX).

Nous distinguons ainsi deux groupes dans les caractères révélés par acidification :

+ le premier, constitué de 3 souches identifiées comme étant Brevibacterium oxydans et une (O_{25}) identifiée, très certainement à tort, Corynebacterium species. Cette souche est très probablement un Brevibacterium oxydans.

+ le second groupe, formé de 11 souches a la particularité de rassembler des souches apparemment différentes comme :

- Corynebacterium equi
- Brevibacterium linens
- Arthrobacter globiformis
- Brevibacterium et Corynebacterie species.

En fait, nous verrons que ces genres sont très voisins les uns des autres et qu'ils peuvent effectivement appartenir au même groupe.

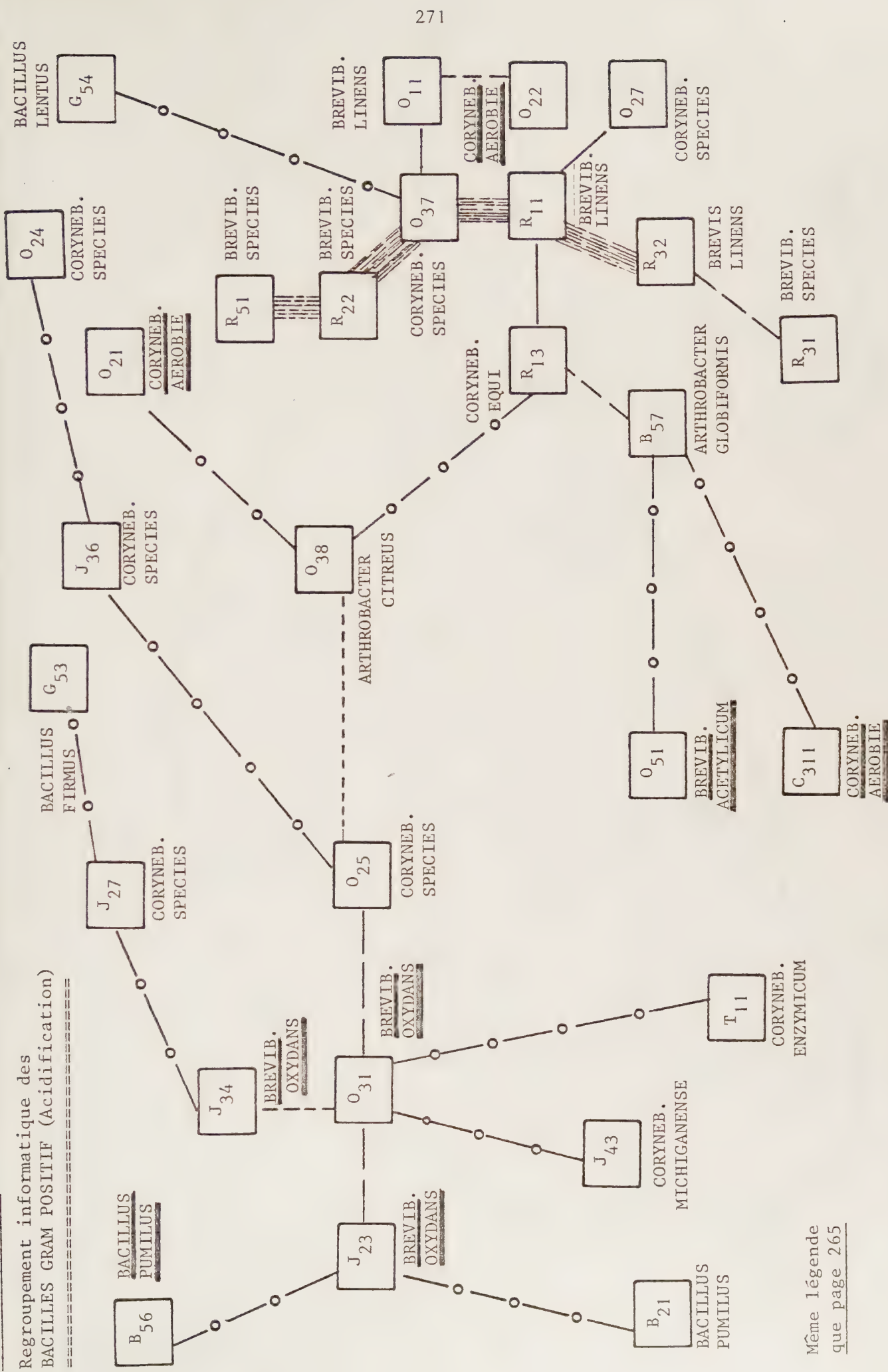
Enfin, nous remarquons également que les BACILLUS sont très éloignés de ces 2 groupes, de même que les espèces comme :

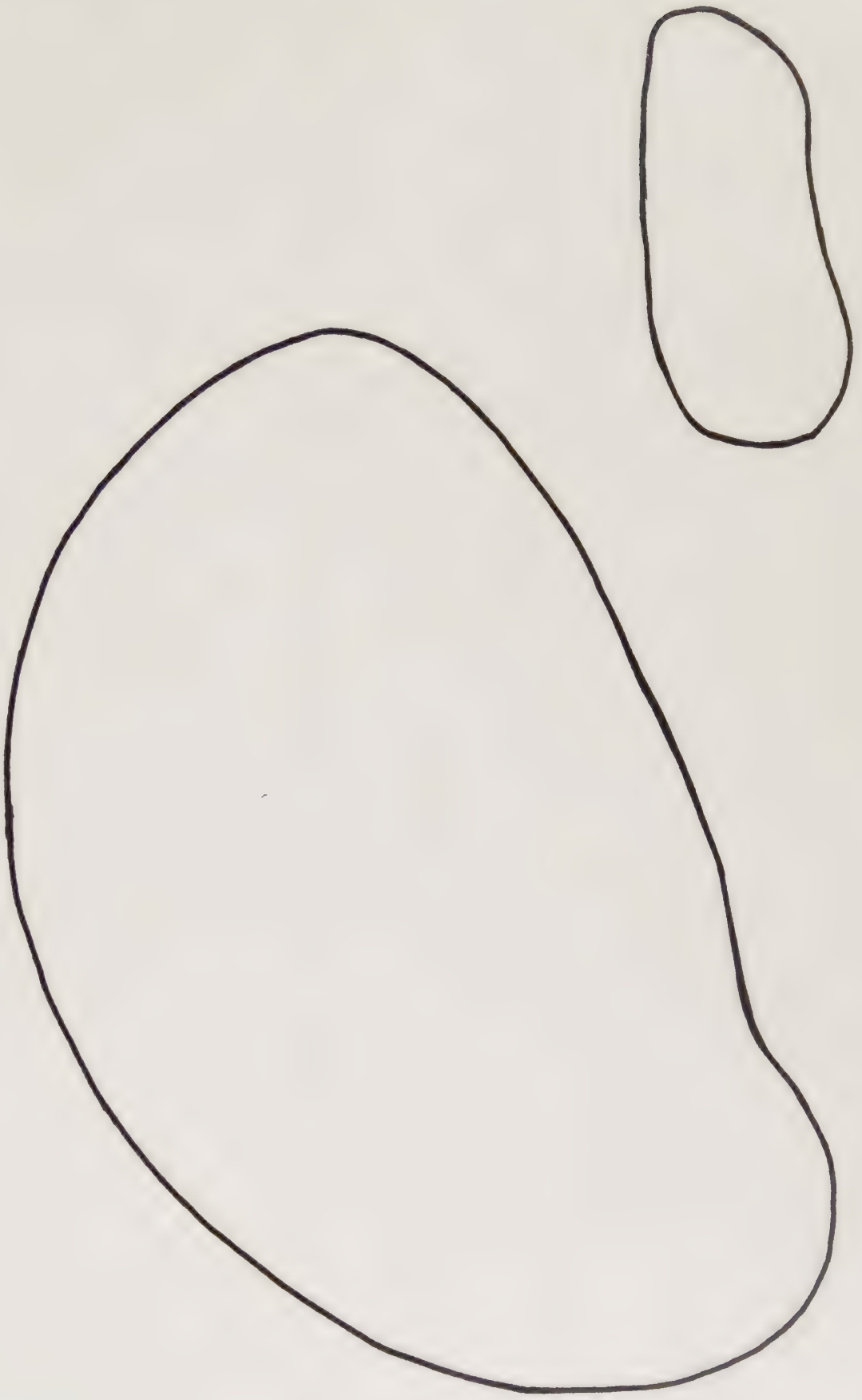
- *C. michiganense*
- *C. enzymicum*
- *B. acetylicum*
- *A. citreus*.

Nous n'avons soumis à l'analyse informatique des caractères de croissance que 24 souches sur 28. Nous avons en effet, supprimé les BACILLUS du groupe Coryneforme afin d'éviter une interférence possible.

Nous retrouvons cette fois sensiblement les mêmes résultats que ceux que nous avons obtenus après étude des caractères d'acidification : un groupe de *B. xoydans* et un autre groupe de 11 souches apparemment hétérogènes.

Regroupement informatique des
BACILLES GRAM POSITIF (Acidification)





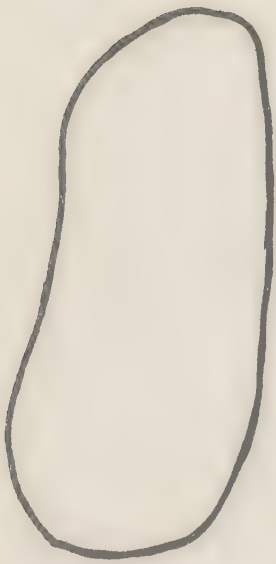
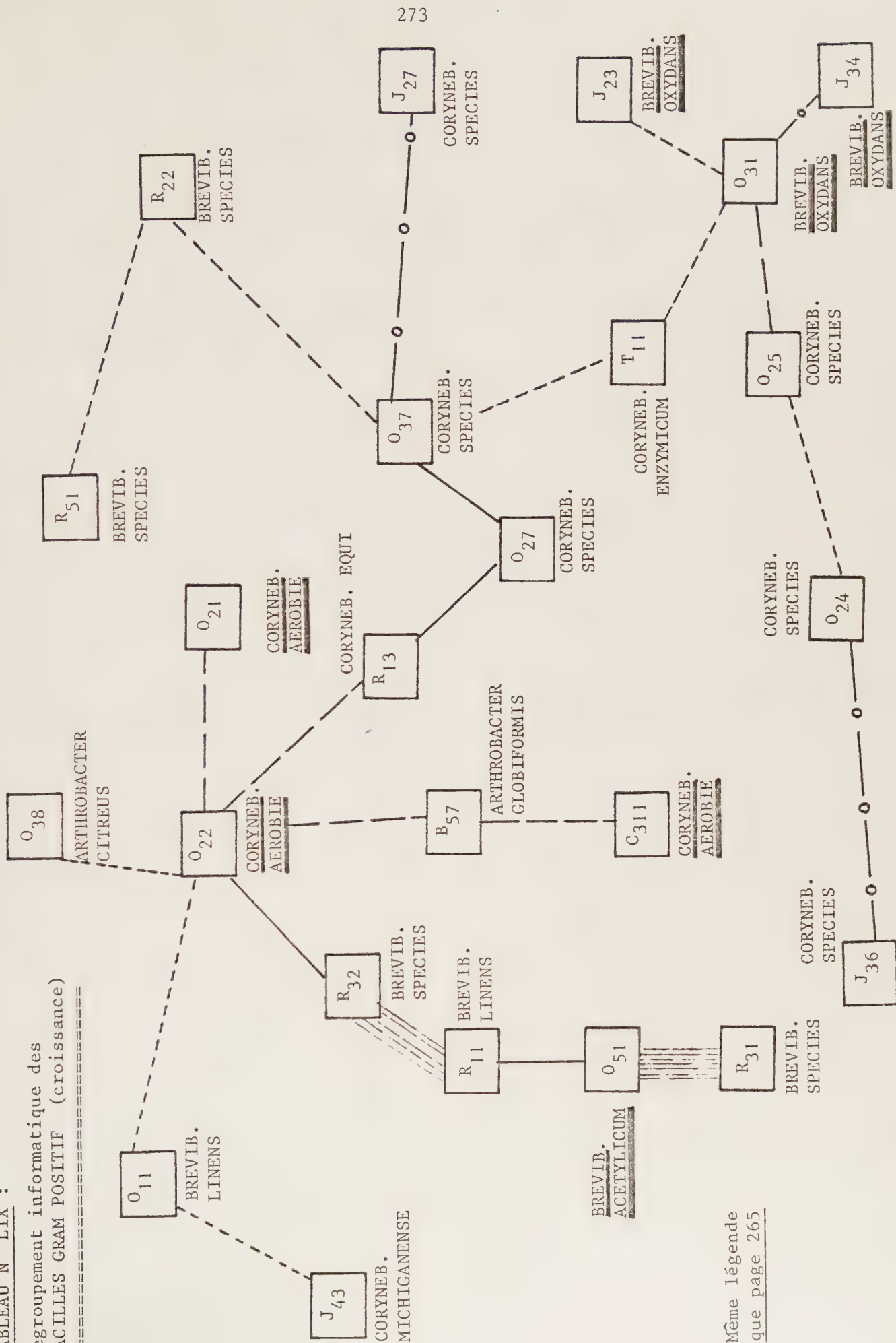


TABLEAU N° LIX :

Regroupement informatique des
BACILLES GRAM POSITIF (croissance)



Même légende
que page 265

5.1.3. Cocci gram positif

Pour cette catégorie de bactéries, nous n'avons effectué que l'analyse des caractères d'acidification (TABLEAU LX).

Cette analyse réalisée sur 36 souches, les regroupe autour de 4 espèces définies dans le BERGEY'S :

1. 23 souches voisines de MICROCOCCUS LUTEUS.
2. 3 souches voisines de M. ROSEUS.
3. 4 souches de STAPHYLOCOCCUS SAPROPHYTICUS.
4. 5 souches de S. EPIDERMIDIS BIOTYPE 4.

On note une filiation très nette entre microcoques et staphylocoques par l'intermédiaire de la souche B₄₃ (M. species).



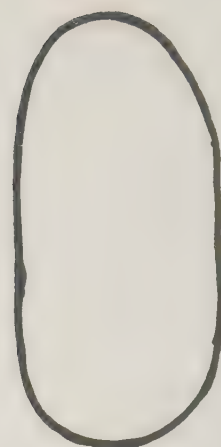
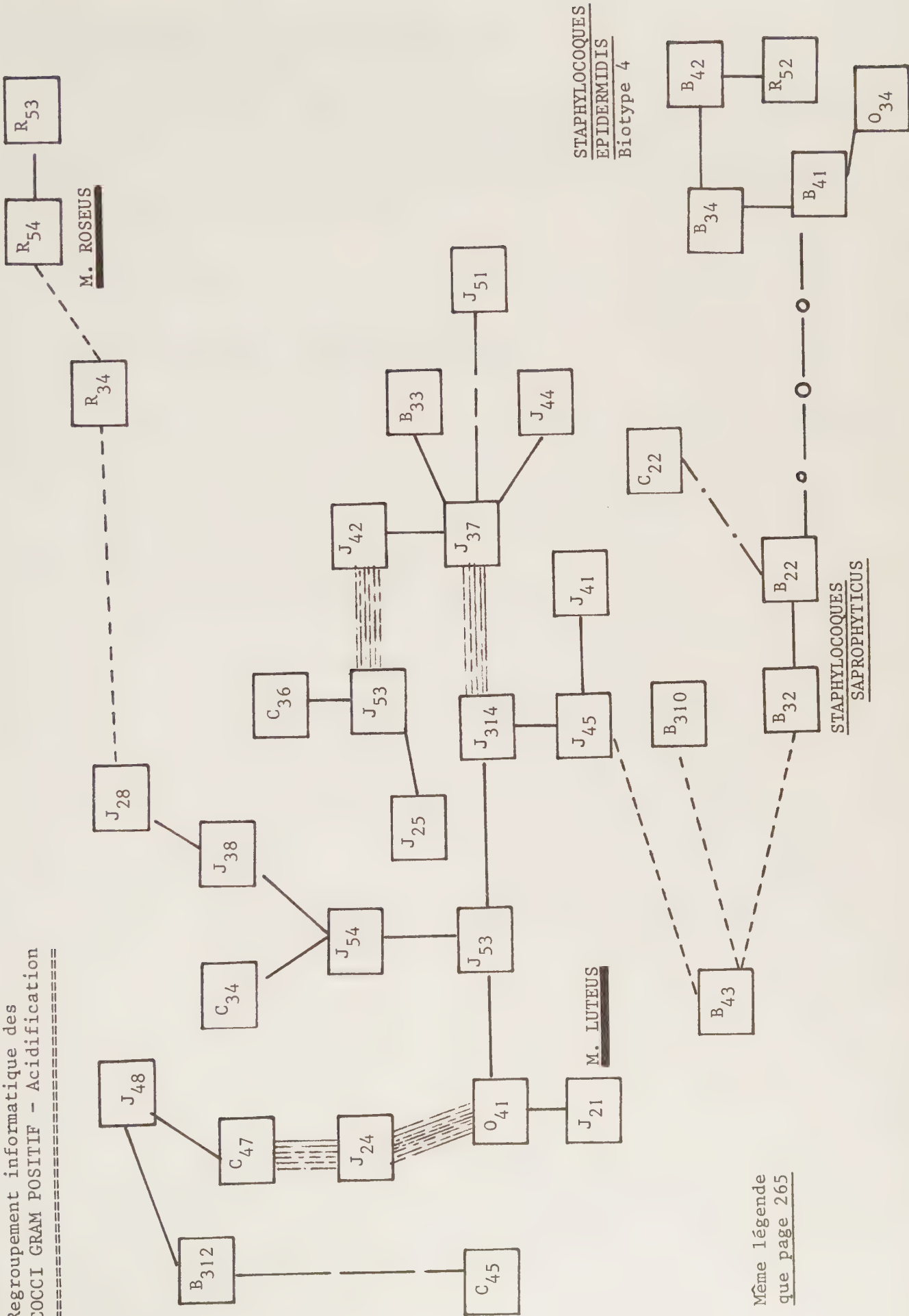


TABLEAU N° LX :

Regroupement informatique des
COCCI GRAM POSITIF - Acidification



Même légende
que page 265

5.2. Analyse par la méthode des dendrogrammes.

Cette méthode d'analyse informatique ne nous a pas permis d'obtenir le moindre résultat de classification. Nous ne reproduirons donc pas le dendrogramme obtenu. En effet tous les genres sont mélangés indépendamment de leur morphologie et de leur gram.

5.3. Etude de corrélation bactéries - minéraux.

Pour 122 prélèvements horaires, nous disposons de mesures portant sur 28 variables :

- 9 dosages de minéraux par absorption atomique,
- 8 mesures granulométriques,
- 11 données bactériologiques :
 - . nombre de bactéries total
 - . nombre de bactéries de chaque groupe, soit de
 - . Alcaligenes + Pseudomonas
 - . Flavobacterium + Xanthomonas
 - . Neisseria
 - . Moraxella
 - . Groupe des Microcoques et Staphylocoques
 - . Corynebacterium
 - . Brevibacterium
 - . Erwinia
 - . Bacillus
 - . Levures.

Nous avons donc une matrice de corrélation de 122 lignes (prélèvements) et 28 colonnes (variables mesurées). Les résultats de l'analyse sont représentés dans le tableau LXI, où seuls les résultats significatifs ont été inscrits. Les corrélations entre les éléments minéraux ont fait l'objet d'un

travail présenté parallèlement (CALOP - 34 -). En ce qui nous concerne nous remarquons une corrélation positive, entre le volume global et le pourcentage de particules de diamètre $2\ \mu$, entre les particules de $2\ \mu$ et celles de $3\ \mu$. En revanche, il existe une corrélation inverse entre les particules de $1\ \mu$ et celles de $6\ \mu$, ce qui confirme la sélectivité de nos prélèvements dans les classes de fines particules.

Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre les bactéries et les minéraux (hormis une légère corrélation Zn - groupe Flavobacterium, Xanthomonas).

De même, il n'a pas été trouvé de corrélation entre les classes granulométriques et les comptages bactériens. Si nous considérons les bactéries entre elles, nous remarquons une série de corrélations entre le nombre total et le nombre d'Alcaligènes + Pseudomonas, de Flavobacterium + Xanthomonas ainsi que les levures.

Nous avons aussi une corrélation entre les deux groupes de bacilles gram négatif, Alcaligènes - Pseudomonas et Flavobacterium - Xanthomonas.

L'augmentation du nombre total de bactéries peut être considérée comme la conséquence de l'élévation du nombre de bacilles gram négatif.

Les résultats négatifs sont également à considérer. Le fait de ne pas avoir de corrélation entre le nombre de bactéries et les classes granulométriques, ou, entre les comptages bactériens et les substances minérales, implique que les bactéries aérotransportées sont réparties de manière aléatoire sur leur particules-vecteur.

On peut cependant signaler, une tendance à la corrélation inverse entre la teneur en cuivre et le nombre total de bactéries (0,34 avec une limite de significativité à 0,37).

5.4. Etude de corrélation pollution - paramètres météorologiques.

Nous avons effectué une dernière série de mesures, uniquement quantitatives, pour rechercher l'effet de la pollution et des paramètres météorologiques sur les bactéries et les champignons. Cent vingt et une observations

ont été pratiquées durant le printemps et l'été dans la région lyonnaise.

Les résultats, portant sur 17 variables, ont été traités selon la méthode des corrélations multiples. L'analyse finale (avec les valeurs des coefficients de corrélation significatifs) est donnée dans le tableau (LXII).

Nous remarquons une corrélation inverse entre le nombre de bactéries et le taux de SO_2 . Nous avons ensuite poursuivi l'exploitation de ces résultats à l'aide d'un programme de régression multiple qui permet de sélectionner les corrélations entre la concentration en SO_2 et les autres paramètres.

Les limites de significativité des résultats sont obtenus grâce aux valeurs des coefficients de corrélation et celles d'un "test de t" calculé sur le coefficient. (Tableau LXIII).

La concentration en SO_2 semble liée, de façon étroite, aux modifications de température et de visibilité, et paraît jouer un rôle important sur la présence de bactéries vivantes dans l'atmosphère.

Par ailleurs, au cours de nos expériences cycliques, les variations d'humidité relative (entre 72 et 100 %) n'ont pas entraîné de modifications bactériologiques quantitatives ou qualitatives.

Le vent, par contre, joue un rôle capital de par les turbulences qu'il entraîne. A 8 mètres au dessus du sol les bactéries sont plus nombreuses par temps venteux. Cela est moins net à 35 mètres. La direction ne joue un rôle que dans la mesure où une source polluante se trouve en amont du lieu de prélèvement.

La pluie joue aussi un rôle important. Chaque fois que nous avons eu une précipitation, même faible, les chiffres quantitatifs ont augmentés. Par la suite le taux descend et se stabilise si la précipitation se prolonge.

De plus, le 22/11/1973, au GMR₅, nous avons eu la chance d'avoir une forte inversion thermique (du sol à 650 mètres d'altitude). Le matin tôt, avant la constitution de l'inversion le chiffre des bactéries est élevé, puis au lever du soleil, l'inversion se produit et on assiste alors à une incroyable

augmentation de la granulométrie. Aussitôt, le nombre de bactéries chute, montrant ainsi la toxicité de l'air ainsi recyclé vis à vis des micro-organismes en suspension.

| VARIABLES | CORRELATION AVEC SO2 | t calculé sur coefficient |
|------------------------|----------------------|---------------------------|
| Humidité | .178 | 2.349 ⁺ |
| Température | .383 ⁺⁺ | 4.935 ⁺⁺ |
| Nébulosité | .265 | 1.370 |
| Ensoleillement | .077 | - 1.029 |
| Visibilité | - .400 ⁺⁺ | - 3.124 ⁺⁺ |
| Vitesse du Vent | - .120 | . 031 |
| Volume global | - .030 | . 571 |
| Particules de 1 μ | .135 | 1.741 |
| Particules de 2 μ | - .087 | . 466 |
| Particules de 3 μ | - .086 | . 352 |
| Particules de 4 μ | - .005 | . 370 |
| Particules de 5 μ | . 003 | 1.874 |
| Particules de 6 μ | - .081 | 1.166 |
| Particules de 10 μ | .027 | 1.889 |
| Bactéries totales | - .278 ⁺⁺ | - 2.579 ⁺⁺ |
| Champignons | .003 | - . 288 |

TABLEAU N° LXIII : ETUDE DE REGRESSION MULTIPLE SUR SO2

t tabulé (1 %) = 0,25

Significativité (1 %) = ++

t tabulé (5 %) = 1,96

Significativité (5 %) = +

t tabulé (1 %) = 2,57

Significativité (1 %) = ++

QUATRIEME PARTIE
-:-:-:-:-

DISCUSSION

D I S C U S S I O N

=====

Nous orienterons notre discussion suivant trois directions :

- 1) Avantages et inconvénients des différentes techniques de prélèvement des microorganismes atmosphériques,
- 2) Problèmes soulevés lors de l'identification de ces mêmes genres,
- 3) Origine des bactéries atmosphériques.

Considérons tout d'abord les avantages et les inconvénients des différentes techniques de prélèvement.

Quand on utilise la méthode par sédimentation, il manque un paramètre important de mesure, le débit d'air. De plus, par cette technique, nous recueillons essentiellement des particules de forte densité, cocci et bacilles d'après GREENE (110).

- Les méthodes de prélèvement par filtration, simples et peu onéreuses, présentent également des inconvénients. Certaines particules biologiques peuvent par exemple, se dessécher sous l'influence du courant gazeux. D'autres seront tuées par des substances détergentes contenues dans les membranes. Des phénomènes de désorption pourront se produire, faussant les résultats. Mais les méthodes par filtration font aussi intervenir des mécanismes électrostatiques qui peuvent interférer sur les résultats qualitatifs et quantitatifs. En effet, des charges électriques se répartissent sur la paroi des particules biologiques conductrices. Des phénomènes d'agglutination ont pu être mis en évidence dans notre laboratoire par des observations en ultra-microscopie (FONTANGES - 94 -).

Ainsi, la destruction de la particule peut avoir deux causes :

- éclatement sous l'effet de la charge électrostatique,
- décharge disruptive si la valeur critique du champ électrique est atteint en un point de la surface de la particule.

Cependant le calcul de cette charge électrostatique montre que les valeurs sont trop faibles pour produire une destruction physique de la paroi bactérienne. On peut penser que la détérioration de la paroi bactérienne est due en pratique à l'accumulation locale de charges par "effet de pointe". Ce phénomène, intéressant surtout les formes bacillaires, permettrait d'atteindre des valeurs disruptives de 16 KV/cm, pour une densité superficielle locale de $1,5 \cdot 10^{-5}$ Cb/m² soit 100 fois la valeur moyenne de la membrane.

Ces hypothèses peuvent expliquer le fait que, lors de nos expériences comparatives - collecteur à grand volume et filtration sur membrane en acétate de cellulose - nous avons trouvé un taux excessivement faible de bacilles gram négatif. On remarquera également que le rendement des appareils à filtration est sensiblement amélioré si on met la tête de filtration à la terre ou si on utilise des membranes en gélatine.

- Les méthodes par impact - que le prélèvement soit effectué sur milieu solide ou en milieu liquide - sont également traumatisantes pour les cellules vivantes. DRUETT (74) a mis en évidence des dislocations de paroi qui peuvent s'expliquer par phénomènes de compression et de décompression brutales. Cet effet mécanique a pu être mesuré. Si on considère une vitesse du flux d'air de 60 m/s et un temps d'arrêt de 10^{-3} s, on obtient une décélération de 6000 g.

Quand l'impact a lieu en milieu liquide, de nombreuses bulles vont se créer. Celles-ci vont libérer dans l'air, au moment de leur éclatement, des particules en suspension, modifiant ainsi le rendement théorique du dispositif. Ce phénomène va se traduire aussi par une concentration des éléments dissous, d'où l'élévation de la pression osmotique ainsi que de la viscosité. La réhydratation brutale des bactéries prélevées pourra donc s'accompagner d'une létalité importante.

Quand l'impact a lieu sur la gélose, le flux d'air va entraîner une dessiccation du milieu de culture. Comme conséquence on notera une élévation de concentration des substances inhibitrices. WILLIAM et HIRSCH (300) ont ainsi évalué à 0,10 - 0,15 gramme par minute, la perte d'eau d'une boîte de Pétri dans un échantillonneur à fentes de débit 28 l/mn. Pour MAY (206), cette fuite d'eau est une gêne considérable au cours des prélèvements aérobiologiques. C'est pourquoi LEE et GARBETT (169) ont proposé d'utiliser de la gélose additionnée de carboxyméthyl cellulose à 25 %, et plus récemment MAY (205) de l'oxyéthylène - docosyl - éther (OED). Cette substance étalée sur la surface de la gélose, sèche en formant une couche insoluble très efficace. La carboxyméthyl cellulose sert d'agent d'étalement. Grâce à ce procédé, MAY a pu utiliser un "BOURDILLON MK II", en continu, pendant près d'une heure (700 l/mn), au lieu des quelques minutes habituelles. On notera qu'il existe également un effet thermique qui peut être nuisible pour certaines bactéries. Avec l'échantillonneur d'ANDERSEN, l'élévation de température est de 5° C. Enfin, si les bactéries prélevées sont nombreuses, on aura un résultat par défaut. En effet, plusieurs bactéries pourront donner une seule colonie. C'est ainsi que la NASA (217) a adjoint une table de correction ou guide d'utilisation de l'appareil d'ANDERSEN. Par exemple, pour 399 colonies observées, on portera le chiffre corrigé de 2427.

Des études comparatives ont été effectuées par divers auteurs. SAYER (255), dans une enceinte hospitalière, a utilisé, en parallèle, la méthode de sédimentation et le prélèvement à l'aide de l'appareil d'ANDERSEN. Les résultats obtenus étaient de 9375 colonies avec ce dernier contre 865 pour la première méthode. Du point de vue qualitatif cet auteur remarque l'absence de *Pseudomonas* quand il utilise la technique de sédimentation.

- Devant les inconvénients dus à ces différentes méthodes de prélèvement, sédimentation, filtration, impact, nous avons utilisé un autre appareillage de conception entièrement différente, un collecteur à grand volume d'aspiration, dont le principe repose sur le "lavage de l'air". En d'autres termes, sa cinétique de fonctionnement repose sur le calcul de la relation pouvant exister entre les concentrations de particules de l'air (C_a) et de l'eau (C_e). Ce calcul peut être établi d'après le nombre de particules trouvé dans le circuit d'eau entre t et $t + dt$.

Si on désigne par V , la capacité du circuit d'eau ; Q , le débit d'eau ; q le débit des pertes totales de liquide pollué ; D , le débit d'air, on peut écrire :

$$VdC_e = C_a Ddt - C_e q dt \quad (1)$$

ou

$$\frac{d C_e}{dt} = C_a \frac{D}{V} - C_e \frac{q}{V} \quad (2)$$

$$C_e(t) = C_a \frac{D}{q} + \alpha e^{-\frac{q}{V} t} \quad (3)$$

α étant la constante d'intégration, elle-même fonction de la mise en route du collecteur (Fig. 3) et des conditions de prélèvement. On remarque, pendant la première phase, que la concentration de l'eau en particules passe de 0 à la valeur d'équilibre C_e (Figure 4).

L'équation (3) devient :

$$C_e(t) = C_a \frac{D}{q} \left[1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \right] \quad (4)$$

avec $\tau = \frac{V}{q} = \text{Constante de temps.}$

Cette concentration dans l'eau permet de calculer la concentration dans l'air car, à l'équilibre, lorsque la courbe devient asymptotique, on peut écrire :

$$C_a = C_e \frac{q}{D} \quad (5)$$

A l'équilibre, la concentration dans l'eau ne varie plus :

$$\frac{d C_e}{dt} = 0$$

Au moment du prélèvement (Figure 5) les coordonnées optimales seront fonction de :

P = débit des pertes (eau vésiculaire, évaporation)

X = Volume de l'échantillon

T = Période.

A chaque prélèvement on retranchera donc $C_e \frac{X}{V}$.

Or, initialement, $C_e = C_a \frac{D}{q}$

avec $q = p + \frac{X}{T}$

L'équation générale (3) devient

$$C_e(t) = C_a \frac{D}{p + \frac{X}{T}} \left[1 - \frac{\frac{p + \frac{X}{T}}{V} t}{\frac{p + \frac{X}{T}}{V}} \right] e^{-\frac{p + \frac{X}{T}}{V} t} \quad (6)$$

avec $t = 0$

et $C_e = C_a \frac{D}{q} \frac{V - X}{V} e^{-\frac{p + \frac{X}{T}}{V} t}$

Or $C_a \frac{D}{p + \frac{X}{T}}$ est une constante et $\frac{X}{V} e^{-\frac{p + \frac{X}{T}}{V} t}$

est une fonction décroissante avec le temps.

Le problème revient donc à déterminer à quel instant la fonction

$y(X, t) = \frac{X}{V} e^{-\frac{p + \frac{X}{T}}{V} T}$ est négligeable devant (1) selon les conditions expérimentales.

Dans ce cas $t = T$.

Le réseau des courbes $y(x, T)$ (Fig. 6) permet alors de fixer les délais de prélèvements selon le volume. L'erreur sur l'asymptote, en pourcentage est représentée sur l'axe des ordonnées ; la période sur celui des abscisses.

Les courbes en traits pleins sont représentatives de l'équation :

$$y = \frac{x}{V} e^{-\frac{p + \frac{x}{T}}{V} T} \text{ en fonction de } T.$$

Les courbes en traits pointillés sont représentatives du volume horaire prélevé :

$$V_h = x \frac{60}{T}$$

Le point de fonctionnement étant fixé, on peut alors définir complètement le fonctionnement théorique de l'appareil depuis sa mise en marche, en précisant le temps de réponse :

$$\tau = \frac{V}{q} = \frac{V}{p + \frac{x}{T}}$$

et le gain

$$\sigma = \frac{C_e}{C_a} = \frac{D}{q}$$

Il peut arriver qu'au cours du fonctionnement, la concentration en particules de l'air passe brusquement de la valeur C_a à la valeur $C'a$, la concentration dans l'eau passera de C_e à $C'e$.

L'équation générale (3) permettra de déterminer le régime transitoire (figure 6).

$$C_e(t) = C'a \frac{D}{q} + C_e - C'a \frac{D}{q} e^{-\frac{q}{V} t} \quad (8)$$

Ainsi, quand le collecteur est en phase asymptotique, il perd autant de particules qu'il en capte. Il est intéressant de définir le coefficient de récupération de cet appareillage.

Pendant une période T , l'air apporte $C_a \cdot DT$ particules, tandis que l'eau retient $C_e X$ particules. A chaque prélèvement on en retire $C_e x$, qui doivent être captées pendant la période de prélèvement suivante pour que l'équilibre soit à nouveau atteint. Soit Z le coefficient de récupération, on peut écrire :

$$Z = \frac{C_e x}{C_a DT}$$

$$C_e = C_a \frac{D}{q} \quad \text{et} \quad q = p + \frac{x}{V}$$

d'où :
$$Z = \frac{x}{pT + x} \quad (\text{figure 7})$$

Dans notre cas particulier, le débit d'air étant de 1300 m³/h et les pertes liquidiennes de 5 litres (4 litres par évaporation et eau vésiculaire + 1 litre de prélèvement), nous pouvons écrire :

$$C_a/m^3 = C \times 769 \quad \text{dans le cas de l'ensemencement}$$

de 0,05 ml de liquide dilué au 1/10.

$$C_a/m^3 = C \times 76,9 \quad \text{dans le cas de l'ensemencement de}$$

0,05 ml de liquide non dilué.

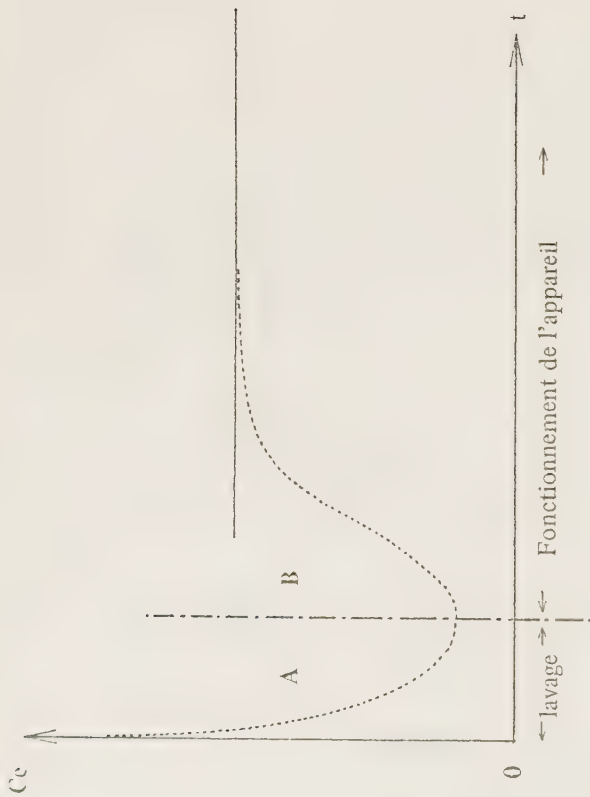


FIGURE 3

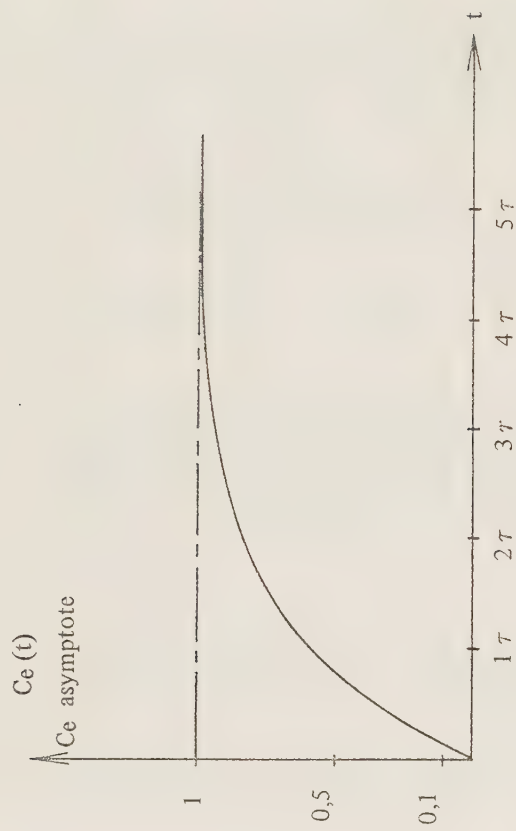


FIGURE 4 : Mise en marche.

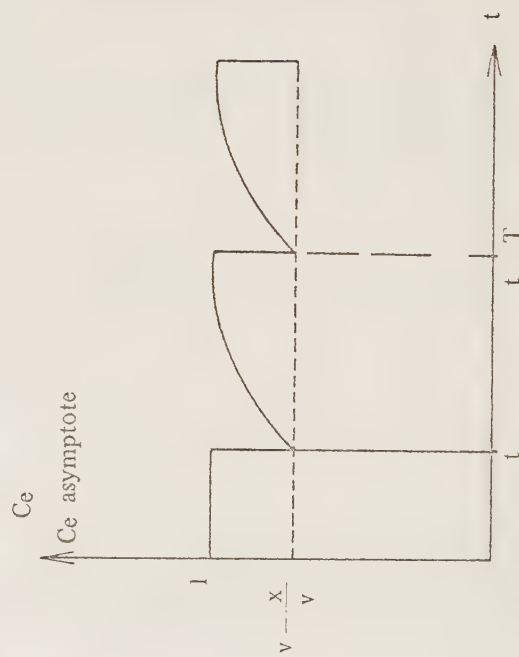
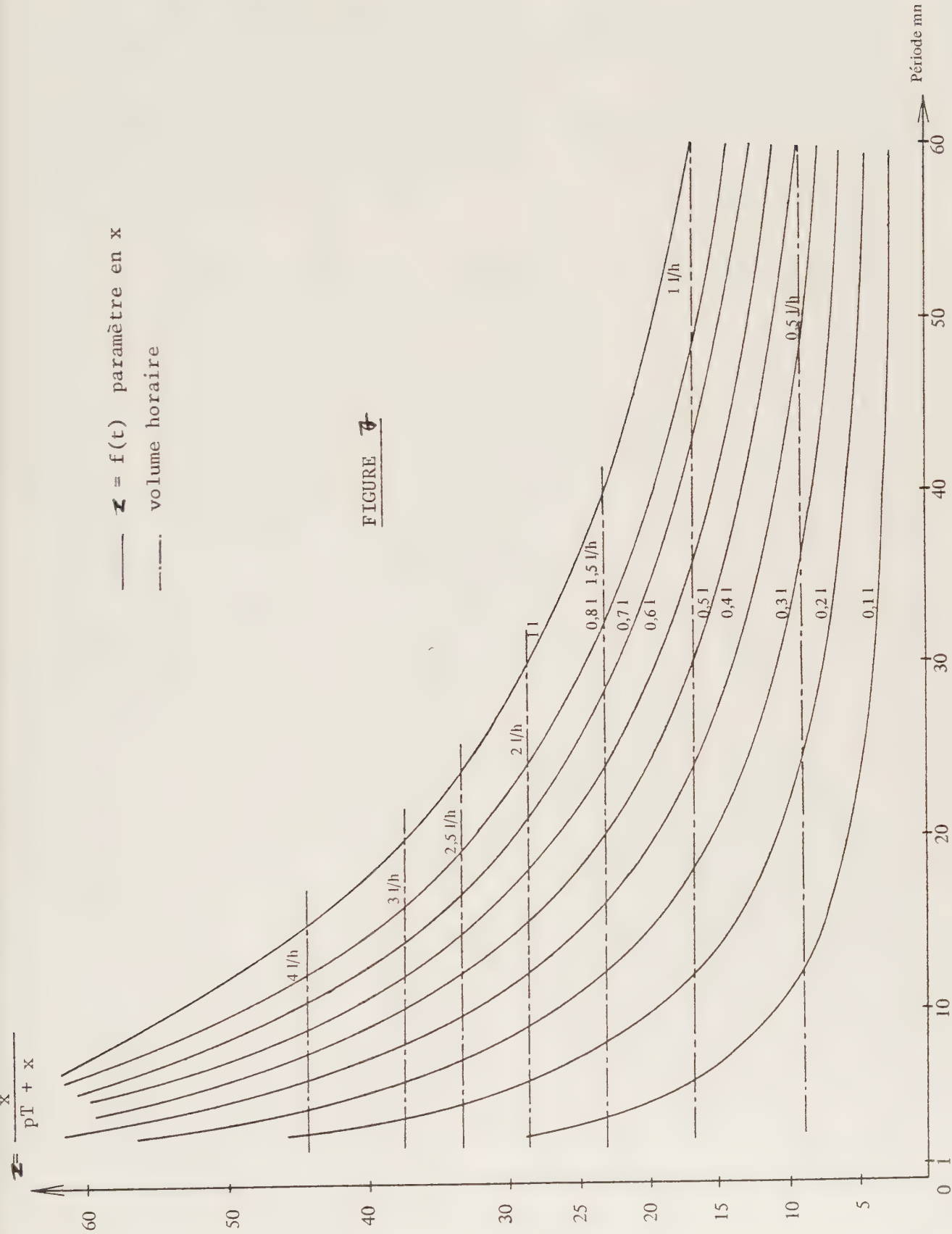


FIGURE 5 : Prélèvement.

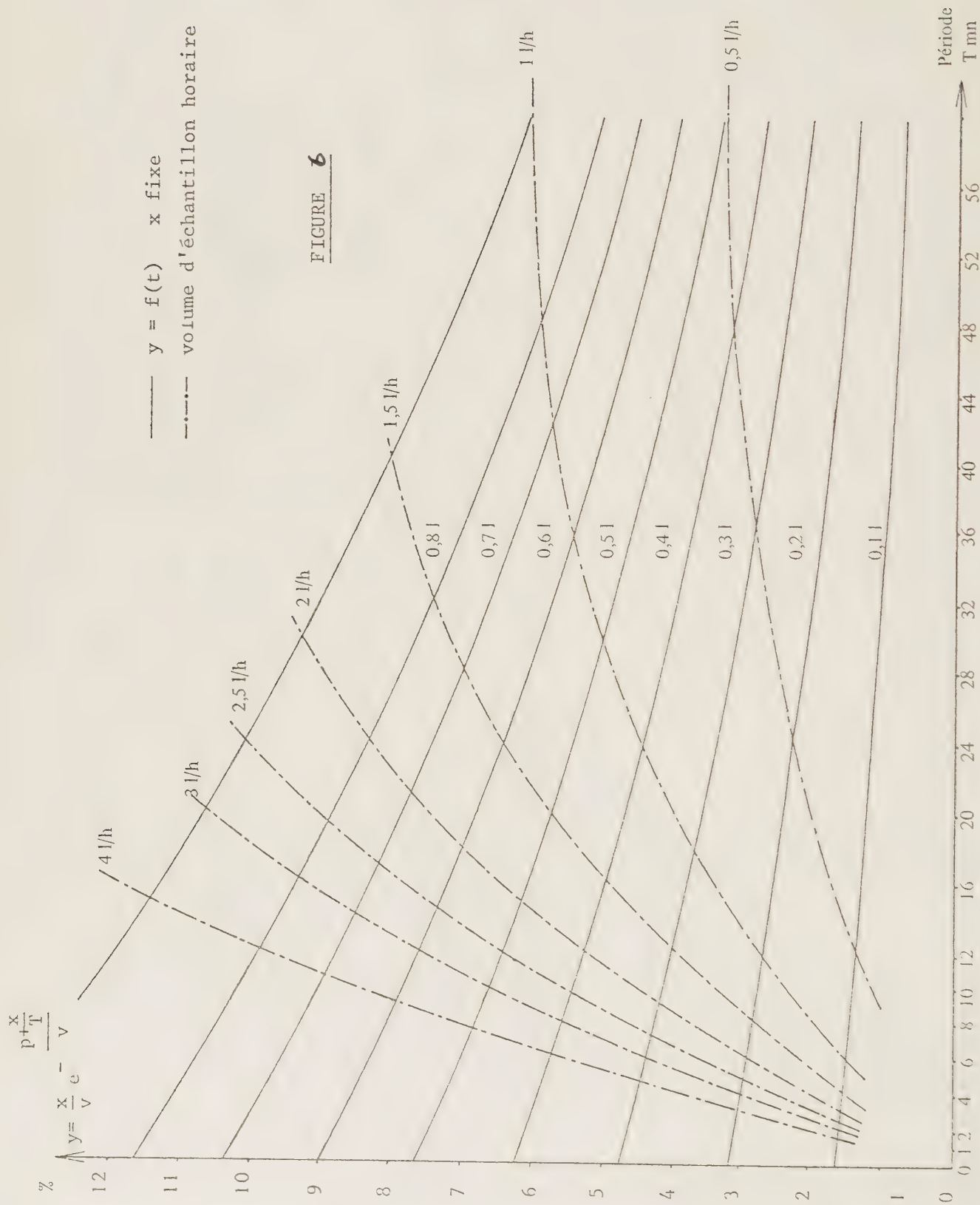
— $z = f(t)$ paramètre en x
- - - volume horaire

FIGURE 7



— $y = f(t)$ x fixe
 - · - · - volume d'échantillon horaire

FIGURE 6



Ce collecteur, outre le fait qu'il possède un très grand volume d'aspiration, présente par ailleurs de nombreux avantages. D'abord, son emploi est simple, même dans sa version mobile. De plus, les particules atmosphériques sont collectées en milieu liquide ce qui facilite les manipulations. Après stérilisation de l'eau avant la mise en route, il suffit de contrôler la non - contamination du réservoir toutes les 3 heures.

Un autre avantage de cet appareil réside dans sa sélectivité. Dans l'atmosphère, la répartition de fines particules se fait au hasard selon une distribution de type POISSON. Celle-ci est due à la combinaison de 2 actions, d'une part, la sédimentation naturelle des particules, d'autre part, le brassage continu des couches inférieures. Si, théoriquement, la sédimentation des particules obéit à la loi de STOKES, du point de vue pratique, cette sédimentation est troublée par les phénomènes secondaires de coalescence, et de microclimat. Sur le plan biologique, nous savons que les particules potentiellement inhalables doivent avoir un diamètre moyen compris entre 1 et 3 μ

Pour rechercher si notre collecteur était efficace dans cette zone de prélèvement, nous avons effectué une série d'études granulométriques à l'aide d'un compteur électronique ⁺.

L'histogramme correspondant (Figure 8) montre que les deux distributions, théorique et observée, sont significativement différentes. L'hypothèse d'une distribution de type POISSON doit donc être rejetée, et le collecteur opère bien une sélection des particules entre 1 et 5 μ .

Du point de vue de la survie des bactéries au moment du prélèvement, on remarquera que la détente et la condensation destinés à former des "droplet nuclei" se font en milieu humide. En conséquence, le rendement de prélèvement est plus élevé qu'avec les dispositifs décrits précédemment. Ce rendement n'est cependant pas de 100 % et le collecteur ne peut être comparé à un filtre absolu. Une particule captée a une certaine probabilité de s'échapper du circuit. Cette probabilité est fonction du nombre de particules en suspension dans le circuit d'eau, mais aussi, du temps depuis lesquelles, elles sont

⁺

Compteur COULTER ELECTRONICS Zn.

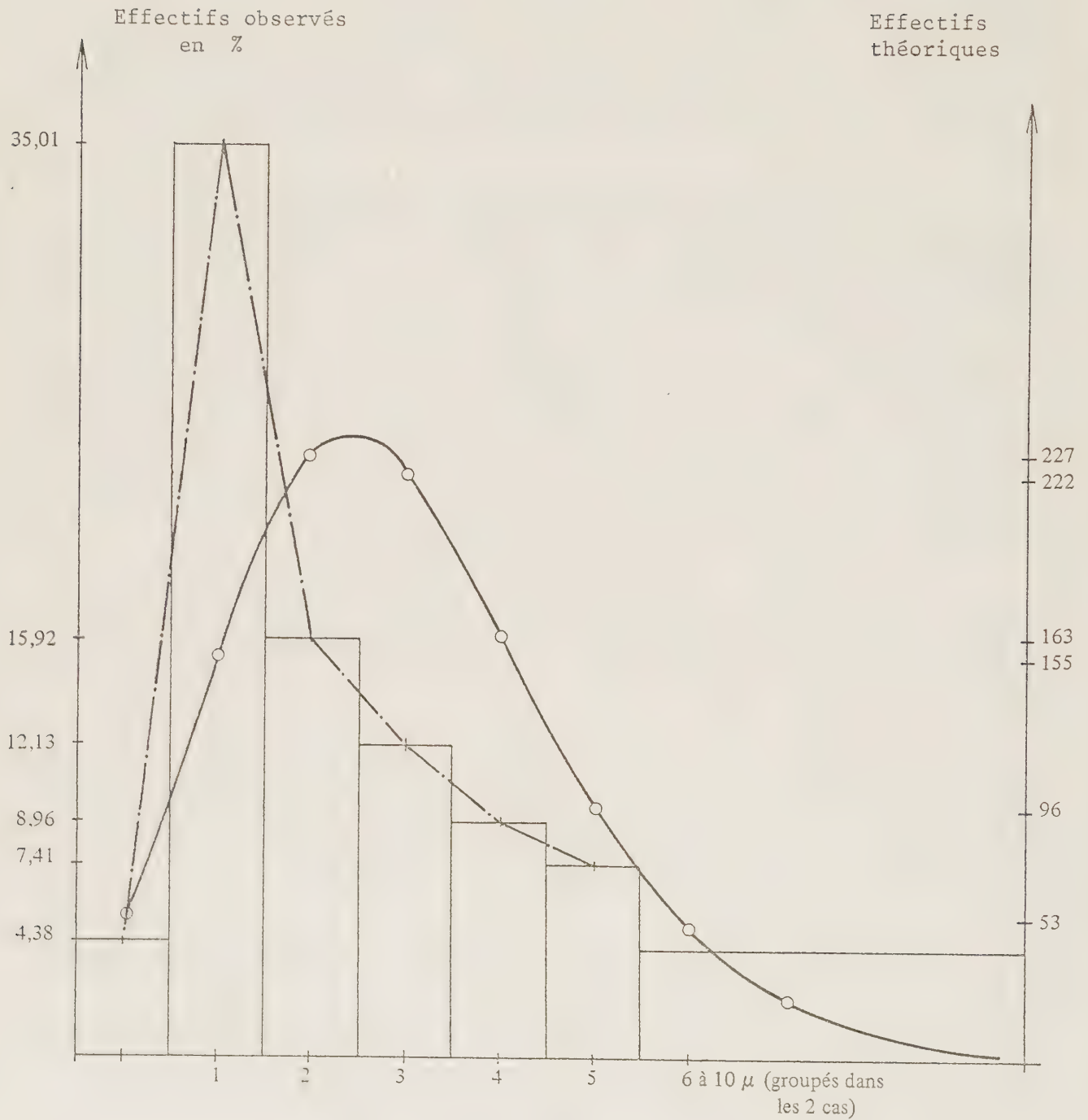


FIGURE 8

prélevées. Une modification positive de la concentration bactérienne dans l'air se traduira donc par une modification de la concentration dans l'eau fonction :

- d'une part, de l'importance de la concentration bactérienne atmosphérique,
- d'autre part, du temps d'élimination nécessaire à rejoindre l'asymptote initiale du système.

Nous pouvons donc admettre que l'appareil de prélèvement utilisé pour nos travaux permet d'obtenir des résultats très représentatifs de la pollution en bactéries d'un endroit donné.

Notre deuxième chapitre de discussion portera sur l'analyse bactériologique proprement dite des prélèvements.

- Dans un premier temps, nous avons recherché les conditions optimales de culture des bactéries atmosphériques. Des études comparatives nous ont permis de retenir la température de + 30° C, un temps d'incubation de 48 h à cette température, suivi d'une semaine à la température du laboratoire et à la lumière naturelle, ceci afin de laisser se développer la pigmentation des colonies. En ce qui concerne le milieu, après avoir rapidement abandonné la gélose nutritive, la gélose additionnée de NaCl, de KCl, de nitrate ou encore d'une peptone plus riche, nous avons utilisé la gélose Tryptose ⁺.

- Dans un second temps, nous avons voulu rechercher si notre méthode de prélèvement et de comptage était fiable. Dans ce but, nous avons retiré, à un moment donné, 5 fois 5 ml d'eau du collecteur dans 5 tubes différents. A partir de chaque tube nous avons effectué 5 ensemencements sur boîte de Pétri. Les résultats obtenus, indiqués dans le tableau LXIV en annexe, montrent une très bonne reproductibilité.

Cependant, nous avons remarqué des différences caractéristiques selon que l'échantillon prélevé était ensemencé directement ou indirectement, après dilution au 1/10e, sur une boîte de Pétri. Jamais nous n'avons retrouvé le coefficient 10. Chaque fois, le nombre final obtenu était plus élevé quand le prélèvement était dilué (ex : 27 x 10 au lieu de 116, 155 x 10 au lieu de 332...). Ce résultat peut s'expliquer facilement car, par dilution, l'agitation fragmente les supports sur lesquels sont souvent absorbées les bactéries. De plus, il existe un asynchronisme de développement entre les différentes espèces, asynchronisme d'autant mieux mis en évidence que la suspension est plus diluée. Le tableau LXV (en annexe) permet de constater que de nombreux germes poussent entre le 4e et le 8e jour. Si la concentration est élevée, ces germes peuvent être recouverts avant ce délai par des bactéries à croissance rapide, d'où le nombre final inférieur au nombre réel.

+

DIFCO

- Cette technologie particulière appliquée à notre appareillage, nous a permis de montrer qu'au même instant, et pour le même lieu de prélèvement, le nombre de bactéries prélevées était plus élevé à 35 m du sol (Collecteur placé sur les terrasses du C.R.S.S.A.) qu'à 7 mètres (Collecteur sur le camion laboratoire), corroborant, avec cependant un gradient de bactéries nettement moins élevé, les travaux de BOIZIS (21) effectués au niveau des tours de MARSEILLE.

Nous avons voulu aussi comparer les résultats donnés par le collecteur avec ceux que nous obtenions par filtration sur membrane en acétate de cellulose. Du point de vue quantitatif, notre appareil nous a permis de mettre en évidence 20 763 germes/m³ alors que la filtration n'en décelait que 1550. Dans ce dernier cas, la quantité d'air prélevé était de 20 litres. Dans les deux cas, les milieux et les conditions de culture étaient identiques. Du point de vue qualitatif, les résultats sont encore plus intéressants (Tableau LXVI en annexe), car par la seconde méthode nous n'avons pas retrouvé de Bacilles ou de Coccobacilles gram négatif.

Ces résultats sont donc contraires à la théorie de MAY et HARPER (210) selon laquelle les cyclones auraient un faible rendement vis à vis des germes gram négatif.

De même les Microcoques sont en plus faible pourcentage. En revanche, les Corynebactéries sont très nombreuses. Pour expliquer ce phénomène, on peut penser à des modifications rapides de la composition de l'atmosphère, modifications non décelées par la filtration, mais aussi et surtout à une interférence électrostatique, difficile à déterminer avec précision.

On peut donc déjà conclure, à ce niveau de la discussion qu'il est illusoire de comparer des résultats d'une ville à l'autre, d'un point à un autre, si les appareils utilisés sont différents.

- L'identification précise des bactéries atmosphériques nous a posé de nombreux problèmes. En effet, ces espèces sont de provenance très diverses, tellurique, hydrique, végétale, animale et humaine. Il sera donc nécessaire d'avoir une méthodologie très complète.

Nous avons utilisé une galerie de microtubes à 50 caractères, contenant du milieu HUTNER additionné d'extrait de levure. Nous avons vérifié qu'il convenait pour toutes les souches que nous avons isolées. Ce milieu est synthétique et sa composition bien connue. Seul l'extrait de levure peut varier d'un lot à l'autre. Cette technique nous a donné satisfaction, à la condition cependant d'utiliser une suspension de densité optique, identique chaque fois et vérifier que la culture ne date pas de plus de 24 h. Le contrôle de cette méthode à l'aide de souches de référence s'est révélé très satisfaisant, sauf peut être pour *Brevibacterium linens* ; nous ferons cependant remarquer que ce genre est en remaniement taxonomique dans la dernière édition du *BERGEY'S*.

Pour l'identification proprement dite, nous avons utilisé les deux grands systèmes de classification connus aujourd'hui : la classification linnéenne et la classification adansonnienne.

• C'est à LINNE que l'on doit l'établissement du système basé sur des dichotomies successives pour l'identification en sciences naturelles. Le principe même de la dichotomie donne une importance plus grande à certains caractères. On arrive ainsi à la création de clefs dont la réponse à une succession de caractères, oriente le diagnostic. On voit d'emblée que la moindre erreur ou la moindre variation bactériologique entraîne des déviations considérables. Ainsi, pour notre souche O₅₃, nous arrivons, en suivant les clefs contenues dans la thèse de BALLEUX (8), au diagnostic d'*Alcaligenes paradoxus*. Alors que le caractère oxydase, jamais rencontré dans la clef, nous permet de penser qu'il s'agit plutôt *XANTHOMONAS*. Il en est de même pour la colonie C₅₆ (*Aeromonas* Dourgesi). La clef ne tient pas compte du fait que tous les *Aeromonas* ne sont ni mobiles, ni indole positifs. Les exemples de ce type sont très nombreux. C'est pourquoi, nous terminerons en citant J. COURMONT qui écrivait en 1926 dans son *Précis Bactériologie* :

"Plusieurs auteurs ont tenté la description des microbes et la création de tables dichotomiques ; ces publications rendent des services, à la condition expresse de se souvenir qu'elles n'ont rien d'absolu, que tous les caractères sur lesquels se basent leurs classifications sont trop variables pour que la détermination d'un microbe soit comparable à celle d'une plante plus élevée".

• C'est ADANSON, en 1763, qui estima qu'il était préférable de considérer que tous les caractères ont une même valeur taxonomique. Cette méthode appliquée à la bactériologie par SNEATH (265), utilise le plus grand nombre possible de caractères. Le regroupement s'opère par un programme informatique.

L'étude d'un système de référence, exprimé en une matrice, est obligatoire et les souches à étudier sont classées en 4 groupes :

- souche identifiée
- souche voisine
- souche intermédiaire
- souche externe.

La méthode de SNEATH (265) de classification numérique, par calcul des distances entre différents groupes, est peu employée en identification proprement dite. Elle est par contre très largement utilisée dans les études de classification (GRAHAM - 108 - ; VERON - 279 -).

Une autre méthode, par probabilité et analyse séquentielle, a été proposée par LAPAGE (164) (162) et (163). Après établissement d'une matrice de référence, on propose le profil biochimique de la souche inconnue au programme informatique qui permet :

- d'affirmer l'identité de la souche avec une matrice de référence,
- d'utiliser une série de tests supplémentaires pour arriver au diagnostic,
- de conclure à la non concordance entre la souche inconnue et la matrice de référence.

Le nombre de tests utilisés est d'une très grande importance : avec 15 tests, le pourcentage d'identification est de 1,3 % , avec 20 il est de 11,1 %, avec 35 de 76,6 % et enfin avec 45 ou 49 il atteint 81,7 %.

Les résultats que nous avons obtenus par l'informatique nous permettent de penser que, hormis les cas particuliers où l'on veut faire des regroupements arbitraires, afin d'étudier des populations bactériennes dans des conditions différentes, ou, après une intervention extérieure (BALLEUX - 8 -), la classification adansonienne ne nous apporte pas de solution satisfaisante au problème de l'identification. En effet, voir regrouper à l'intérieur d'une même matrice des bactéries G + et G -, contrecarre trop notre formation de "bactériologiste classique". En revanche, dans un but de classement et après avoir déterminé le genre de la bactérie, ces méthodes sont tout à fait valables et font gagner beaucoup de temps.

Nous pouvons donc conclure que les méthodes extensives, notamment les microméthodes, rapides, fiables et peu coûteuses, couplées à une étude informatique, présentent le plus grand intérêt en bactériologie.

- L'étude de la sensibilité aux antibiotiques qui termine la partie bactériologique de notre travail nous a montré que les résistances sont assez nombreuses pour des souches qui ne sont pas d'origine humaine. Nous pouvons noter aussi, le cas intéressant de deux souches de *Pseudomonas maltophilia*, aux colonies totalement différentes, l'une transparente, l'autre crème. La première est résistante aux antibiotiques, la seconde très sensible. Ce fait mériterait à lui seul, une expérimentation complémentaire.

Nous terminerons cette discussion en envisageant le problème plus général, but de cette étude, de la nature de la flore bactérienne atmosphérique. Si nous considérons la majorité des travaux se rapportant à ce domaine, nous remarquons qu'ils font état, principalement de *Bacillus* et de *Micrococcus*. Nos résultats sont différents puisque nous trouvons un fort pourcentage de *Corynebacterium* et de bacilles gram négatif. De même le groupe *Moraxella*, *Acinetobacter* est loin d'être négligeable. Cette constatation ne peut s'expliquer que par le matériel de prélèvement, différent dans les deux cas.

Avec ce même matériel, il est intéressant de remarquer des différences importantes, selon que le prélèvement est effectué à 8 m ou à 35 m au dessus du sol.

Près du sol, nous trouvons beaucoup plus de *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Arthrobacter* et *Brevibacterium* ; en un mot, la flore est beaucoup plus variée.

Nous pouvons ainsi conclure que :

- les souches rencontrées en quantité plus importante à la station mobile sont en majorité telluriques ou saprophytes des plantes et qu'elles sont remises en suspension dans l'air par les turbulences ou le trafic routier ;
- les gaz d'échappement des voitures inhibent dans leur développement des bactéries très délicates comme les *Flavobacterium*.

Sur le plan quantitatif pur, à 8 m du sol, nous avons peu de bactéries mais beaucoup d'éléments trace. On peut penser qu'à ce niveau l'air est plus toxique pour les bactéries d'où récupération d'un nombre plus faible.

Par contre à 35 m et étant donné la situation de la station fixe sur une petite colline dominant Lyon, nous captions beaucoup de particules légères riches en bactéries entraînées dans les courants ascendants.

Il est intéressant également de remarquer que 1, 2 ou 3 germes sont retrouvés de manière constante. Le plus souvent ce sont des *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Moraxella* ou des *Acinetobacter*.

A côté de ce "fond atmosphérique", on trouve des espèces isolées qui apparaissent "par bouffées" de 3 ou 4 heures.

On peut imaginer ainsi que la composition bactériologique de l'air est double :

- une flore de "fond",
- une flore accidentelle surajoutée qui varie en fonction des conditions météorologiques, de la saison.....

La stabilité de cette flore de fond, pendant un temps relativement long, peut s'expliquer de la manière suivante :

- Certaines espèces sont très résistantes à l'aérosolisation, ce sont celles que nous retrouvons constamment.
- ces espèces sont très répandues à la surface du sol, elles restent en suspension dans l'air très longtemps, soit du fait de la taille des particules - supports soit du fait d'une émission continue (pollution) à proximité.

En résumé, deux cas peuvent se produire :

1°) Ensemencement constant en bactéries très répandues à la surface du sol, et retombant relativement vite, donc à faible degré de dissémination



2°) Ensemencement plus rare, en bactéries peu nombreuses, mais présentant une grande stabilité, très résistantes à l'aérosolisation, séjournant longtemps dans l'air et parcourant de grandes distances



++ La flore accidentelle est due très certainement à des modifications microclimatiques, ou à des conditions locales très particulières telles qu'une circulation routière intense, la proximité d'une industrie produisant des microparticules atmosphériques....

Cette flore correspond à un type intermédiaire : ce sont des bactéries très variées, réparties irrégulièrement dans la nature (sol, végétaux, déchets...). Cela peut être aussi, plus rarement, des bactéries qui séjournent peu dans l'air, mais retrouvées en grande quantité parfois, car piégées rapidement.



- A partir de ces réservoirs naturels - le sol et l'eau - les bactéries vont être dispersées dans l'atmosphère pour y subir dans la plupart des cas des agressions extérieures qui vont diminuer leur viabilité.

Nous rappellerons que les travaux effectués pour essayer de comprendre ce phénomène le furent dans des systèmes expérimentaux où plusieurs paramètres variaient à la fois ce qui se traduisait par de très grandes difficultés d'interprétation.

En ce qui concerne l'OAF, les résultats présentés dans la littérature sont parfois contradictoires, notamment lorsque le mélange ozone - oléfine en enceinte close est toxique, alors que de l'air pollué et emprisonné perd cette toxicité.

De plus, la concentration en oléfine doit être très importante pour que l'action soit caractéristique, mais cette concentration ne se rencontre que dans des atmosphères très particulières (proximité immédiate d'une raffinerie de pétrole par exemple).

+ Si nous tentons de résumer les données bibliographiques d'une part, et nos propres observations d'autre part, nous pouvons admettre que la cellule bactérienne, lors de son passage dans l'atmosphère, va subir un certain nombre de modifications principalement au niveau de sa paroi.

Les effets sont multiples : perte d'eau, altération de l'ADN et sensibilité accrue à certains facteurs tel que l'oxygène. Par ailleurs, la fuite d'ions pourra entraîner des perturbations enzymatiques importantes. On remarquera également qu'aucun des travaux effectués sur la survie bactérienne en aérosol n'a été réalisé à partir de cultures synchrones. Certains auteurs ont en effet montré que les germes en phase post-logarithmique, à faible activité métabolique, résistaient mieux à la mise en suspension dans l'atmosphère (DARK et CALLOW - 59 -).

Ainsi, si la présence d'une colonie signifie l'existence d'une bactérie vivante, l'absence de colonie en un temps donné ne signifie pas forcément mort de la bactérie.

On remarquera aussi la rareté des Enterobactéries (1 souche isolée seulement). Pourtant, ce groupe est très bien représenté dans la nature, les eaux, les substances en décomposition, les tiges des plantes. RANDALL (240) a montré que la demi-vie de ces bactéries était en moyenne, de 0,38 seconde.

En atmosphère libre, les Enterobactéries ont donc une durée de vie très courte.

Pour résumer ces différentes constatations on posera les hypothèses suivantes :

- la bactérie dispersée dans l'atmosphère avec sa particule - support est à croissance lente ou à métabolisme exigeant ; son métabolisme s'arrête mais sa viabilité est maintenue.

- la bactérie est à croissance rapide ou la particule support lui permet de se reproduire ou tout du moins de maintenir en activité ses métabolismes ; la bactérie ne survit pas aux conditions de vie en milieu extérieur du fait de sa fragilité.

CONCLUSIONS GENERALES

- Une étude qualitative et quantitative de la pollution bactériologique de l'atmosphère de la région lyonnaise a été effectuée à l'aide d'un appareil à prélèvement original dont le principe repose sur le lavage de grandes quantités d'air en un temps réduit.

- Les résultats obtenus varient en fonction :

- du lieu de prélèvement
- de la hauteur du prélèvement au dessus du sol
- des conditions climatiques et météorologiques locales.

•

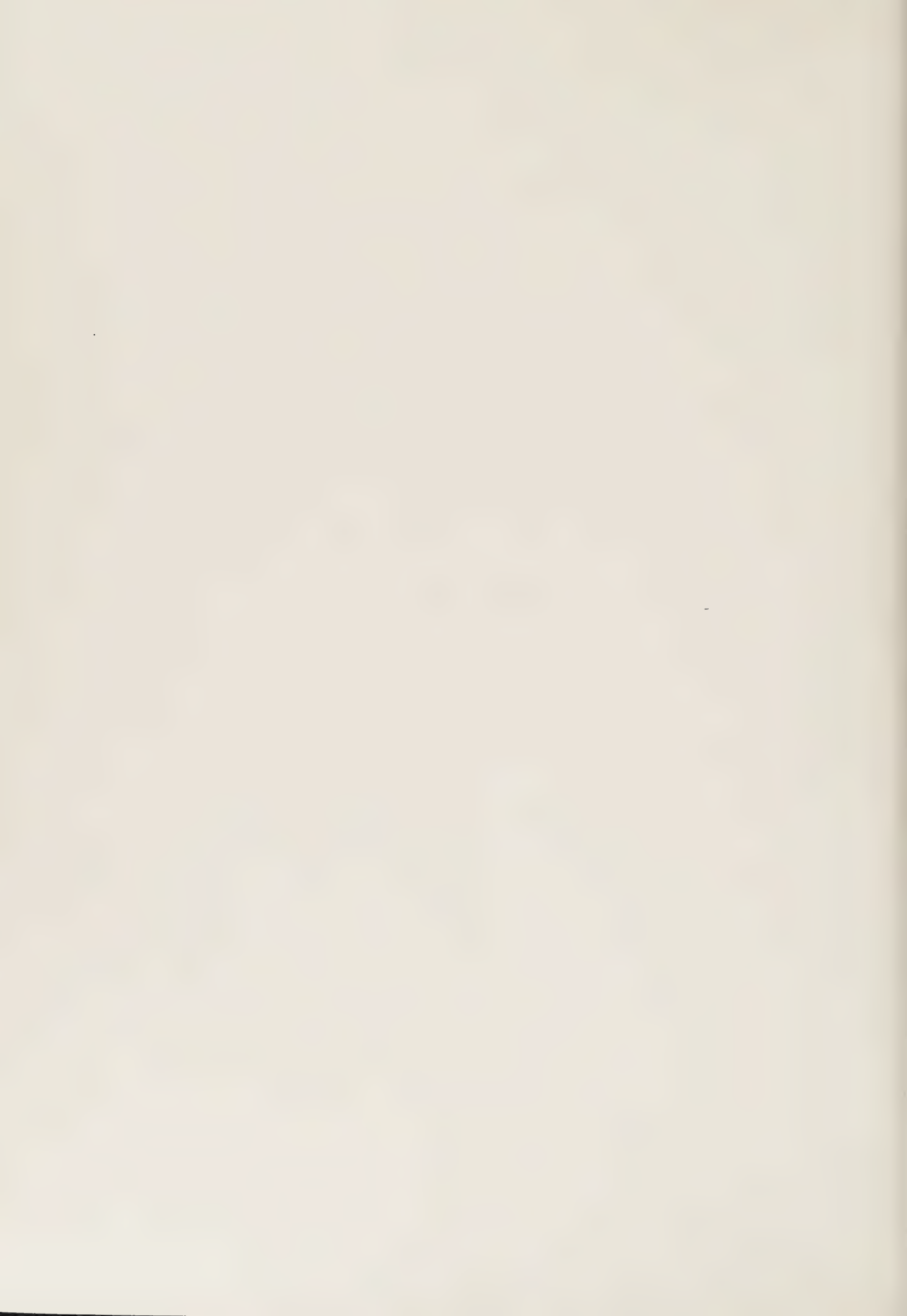
Une étude comparative, effectuée à l'aide d'un autre appareil de prélèvement a montré la supériorité du collecteur à grand volume d'aspiration.

- L'identification des bactéries, obtenue grâce à une méthode enzymatique comportant 50 caractères, suivie de l'utilisation d'un système informatique, a permis d'établir une classification de la flore bactérienne de la région lyonnaise. L'emploi des critères fondamentaux a dû être conservé. De cette étude taxonomique se dégagent une flore de base et une flore surajoutée. Les bactéries à croissance lente, donc à métabolisme ralenti, ont été retrouvées en plus grand nombre confirmant l'hypothèse de leur résistance à l'aérosolisation.









| NUMERO DES BOITES
DE PETRI | NUMERO DES TUBES | | | | |
|-------------------------------|------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| I | 115 | 109 | 119 | 121 | 116 |
| II | 122 | 115 | 116 | 107 | 115 |
| III | 121 | 111 | 123 | 117 | 111 |
| IV | 111 | 116 | 113 | 114 | 114 |
| V | 119 | 111 | 113 | 113 | 110 |
| TOTAL | 588 | 562 | 584 | 572 | 566 |
| MOYENNE | 117 | 112 | 116 | 114 | 113 |
| MOYENNE GENERALE : 114 | | | | | |

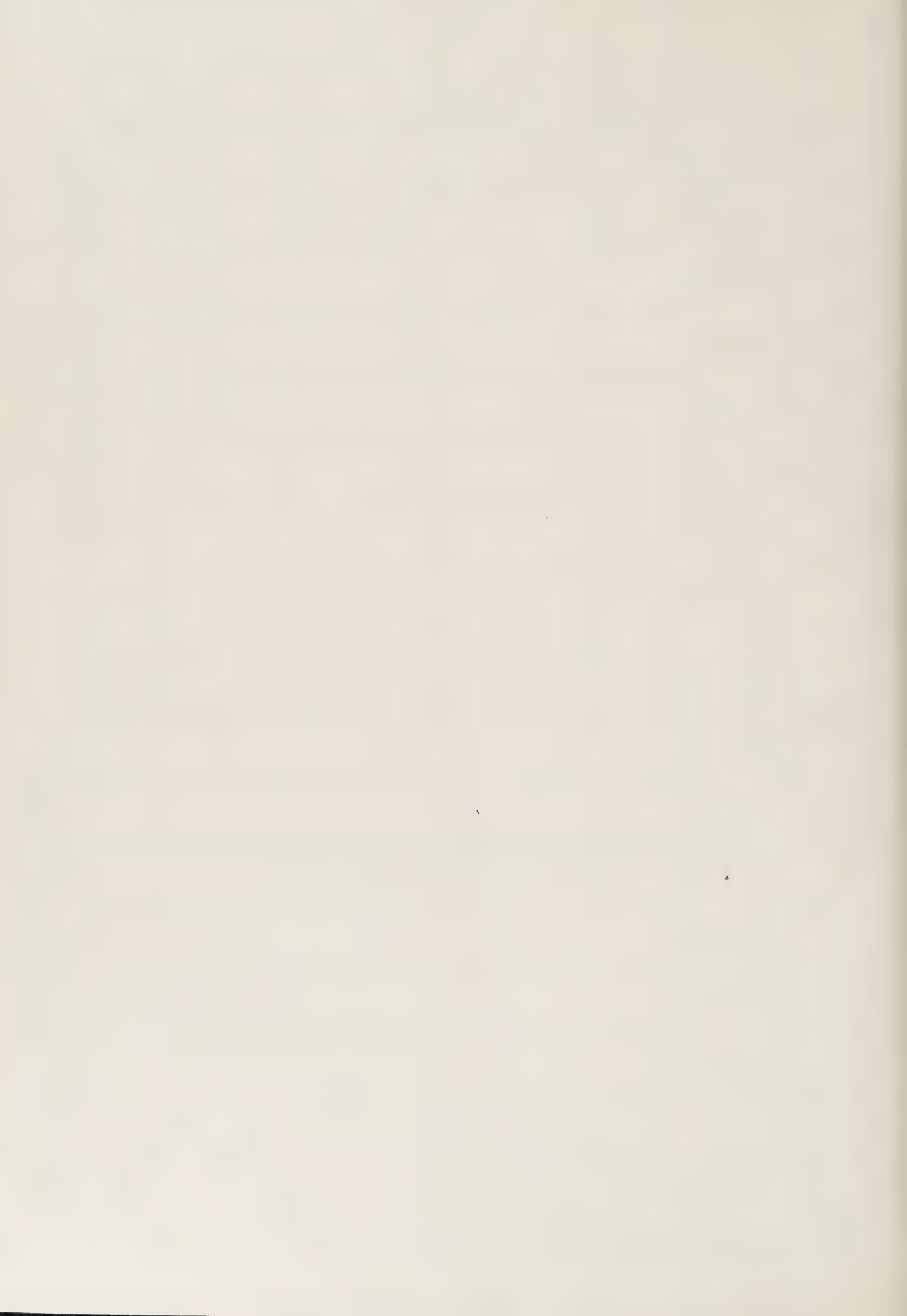
TABLEAU N° LXIV : REPRODUCTIBILITE DU NOMBRE DE COLONIES
SUR UN MEME PRELEVEMENT.

| NUMERO DES
PRELEVEMENTS | NOMBRE DE COLONIES BACTERIENNES | |
|----------------------------|---------------------------------|-------------------|
| | LECTURE A 4 JOURS | LECTURE A 8 JOURS |
| 1 | 62 | 80 |
| 2 | 31 | 50 |
| 3 | 30 | 140 |
| 4 | 16 | 20 |
| 5 | 7 | 15 |
| 6 | 8 | 45 |
| 7 | 44 | 50 |
| 8 | 15 | 30 |
| 9 | 20 | 25 |
| 10 | 18 | 25 |
| 11 | 53 | 70 |
| 12 | 85 | 130 |
| TOTAL | 389 | 590 |

TABLEAU N° LXV : VARIATION DU NOMBRE DE COLONIES OBSERVEES
EN FONCTION DE LA DATE DE LECTURE.

| HEURES | Nombre de colonies - PUR - | PSEUDOMONAS | XANTHOMONAS | ALCALIGENES | ERWINIA | AEROMONAS | FLAVOBACTERIUM | ACTINOBACILLUS | NEISSERIA | BRANHAMIELLA | MORAXELLA | ACINETOBACTER | MICROCOCOCCUS | STAPHYLOCOCCUS | BACILLUS | CORYNEBACTERIUM | ARTHROBACTER | BREVIBACTERIUM | |
|---------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|---------|-----------|----------------|----------------|-----------|--------------|-----------|---------------|---------------|----------------|----------|-----------------|--------------|----------------|--|
| 11H | 14 | | | | | | | | | | | | | | 5 | 6 | | 3 | |
| 15H | 7 | | | | | | | | | | | | | | | 6 | | 1 | |
| 18H | 9 | | | | | | | | | | | | | 2 | 3 | 4 | | | |
| 20H | 12 | | | | | | | | | | | | | | | 10 | | 1 | |
| 21H | 5 | | | | | | | | | | | | | 2 | | 1 | | 2 | |
| 22H | 47 | | | | | | | | | | | | 1 | 2 | | 44 | | | |
| 23H | 73 | | | | | | | | | | | | | 2 | | 70 | | 1 | |
| 24H | 22 | | | | | | | | | | | | 1 | | | 20 | | 1 | |
| 1H | 27 | | | | | | | | | | | | 5 | | | 22 | | | |
| 3H | 38 | | | | | | | | | | | | 1 | 7 | | 30 | | | |
| 4H | 72 | | | | | | | | | | | | 2 | | | 70 | | | |
| 6H | 47 | | | | | | | | | | | | 10 | 2 | | 35 | | | |
| 7H | 30 | | | | | | | | | | | | 1 | | 2 | 26 | | 1 | |
| TOT. | 403 | | | | | | | | | | | | 21 | 17 | 10 | 344 | | 10 | |
| % | | | | | | | | | 0,25 | | | | 5,22 | 4,22 | 2,48 | 85,35 | | 2,48 | |
| MOYENNE | 31 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

TABLEAU N° LXVI : RESULTATS DU NOMBRE DE COLONIES (C.L.E.P.A. Bd. de Ceinture 15/11/1973) - Appareil MILLIPORE
 POUR 100 LITRES D'AIR FILTRE





1. ANDERSEN A.A.
 New sampler for the collection sizing and enumeration of viable
 airborne particles.
 J. Bacteriol. 1958, 76, 471-484.

2. ANDERSEN A.A. - ANDERSEN M.R.
 A monitor for airborne bacteria.
 Appl. Microbiol. 1962, 10, 181-184.

3. ANDERSON J.D.
 Biochemical studies of lethal processes in aerosols of E. Coli.
 J. Gen. Microbiol. 1966, 45, 303-313.

4. ANDERSON J.D. - COX C.S.
 Microbiol Survival
 in Airborne Microbes.
 Gregory Ed. Un. Press. Cambridge, 1967.

5. ANDERSON J.D. - DARK F.A.
 Studies on the effects of aerosolization on the rates of efflux
 of ions from populations of E. Coli strain B.
 J. Gen. Microbiol. 1967, 46, 95-105.

6. ANDERSON J.D.- DARK F.A. - PETO S.
 The effect of aerosolization upon survival and potassium retention
 by various bacteria.
 J. Gen. Microb. 1968, 52, 99-105.

7. ARTENSTEIN M.S. - MILLER W.S. - LAMSON T.H. - BRANDT B.L.
 Large volume air sampling of meningococci and adenoviruses.
 Amer. J. Epidemio. 1968, 87, 567-577.

8. BALEUX B.
 Dégradation biologique des agents de surface. Etude chimique et
 microbiologique.
 Thèse de Sciences, Montpellier 1976, CNRS AO 12834.

9. BARBE J.
 Organisation méthodique de l'étude des caractères enzymatiques des
 bactéries de la tribu des Klebsiellae : application à la classification.
 Thèse d'Etat - Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de MARSEILLE
 6 Juin 1969.

10. BATEMAN J.B. - MAC CAFFREY P.A. - O'CONNOR R.J. - MONK G.W.
 Relative humidity and the killing of bacteria. The survival of damp
 Serratia Marcescens in air.
 App. Microbiol. 1961, 9, 567-571.

11. BATEMAN J.B. - STEVENS C.L. - MERCER W.B. - CARSTENSEN E.L.
Relative humidity and the killing of bacteria : the variation of cellular water content with external relative humidity or osmolality. J. Gen. Microbiol. 1962, 29, 207-214.
12. BEEBE J.M.
Stability of disseminated aerosols of Pasteurella tularensis subjected to simulated solar radiations at various humidities. J. Bact. 1959, 78, 18-24.
13. BEEBE J.M. - PIRSCH G.W.
Response of airborne species of Pasteurella to artificial radiation simulating sunlight under different condition of relative humidity. Appl. Microbiol. 1958, 6, 127-138.
14. BENBOUGH J.E.
Factors affecting the toxicity of oxygen towards airborne coliform bacteria. J. Gen. Microbiol. 1969, 56, 241-250.
15. BENBOUGH J.E. - HAMBLETON P.
Structural, organisational and functional changes associated with envelopes of bacteria sampled from aerosols. Airborne transmission, airborne microbes. Hers J.F. Winckler - Airborne microbes UTRECHT 1973, 131-137.
16. BENEDICT R.G. - SHARPE E.S. - CORMAN J. - MEYERS G.B. - BAER E.F. - HALL H.H. - JACKSON R.W.
Presentation of microorganisms by freeze drying. II. The destructive action of oxygen. Additionnal stabilizers for S. Marcescens. Experiment with other organisms. Appl. Microbiol. 1961, 9, 256-262.
17. BERGEY
Bergey's manual of determinative bacteriology. Eighth Edition. The Williams et Wilkins Company / Baltimore 1974.
18. BERRY C.H.
An electrostatic method for collecting bacteria from the air. Public. Health. Repts. (U.S.), 1944, 56, 2044-2051.
19. BESSON A. - DESBORDES J. - ROSENSTOCK O. - PELLETIER J. - GUYOT JEANNIN C.
Contribution à l'étude bactériologique de l'air de Paris. Ann. Inst. Pasteur, 1955, 89, 514-522.
20. BLACHMAN M.W. - LIPPMANN M.
A multistage aerosol sampler for extended sampling intervals. Amer. Ind. Hyg. Ass. J. 1974, 35, 311-326.
21. BOIZIS N.
Pollution atmosphérique de l'air de Marseille. Thèse Doct. Pharm. Marseille 1965.

22. BOIZIS N. - BLANCARD A.
Etude sur la pollution bactérienne de l'air au niveau des "tours"
de Marseille.
Pollut. Atmosph. 1966, 8, 12-33.
23. BOLL R.H. et Coll.
Mean drope size in a full scale venturi scrubber via transminometer.
EPA fine particle Scrubbler
Symposium SAN DIEGO (Californie) MAY 1974
24. BOULEY G. - DUBREUIL A. - PRULIERE D.
Action des gaz d'échappement d'un moteur à explosion et de leurs
condensats dilués, sur la survie d'E. Coli en culture.
Pollut. atmosph. 1972, 14, 253-256.
25. BOURDILLON R.B. - LIDWELL O.M. - THOMAS J.C.
A slit sampler for collecting and counting airborne bacteria.
J. Hyg. Camb. 1941, 41, 197-224.
26. BOURDILLON R.B. - LIDWELL O.M. - SCHUSTER E.
An improved slit sampler with accurate tuning.
Studies in air hygiene.
M.R.C. Reports - Ser. n° 262 (12-18)
H.M.S.O. 1948 Londres.
27. BROCKETT R.M. - FERGUSON J.K.
Microbiological sampling of the spacecraft atmosphere during a
simulated SKYLAB mission.
Aviation Space and Environm. 1975, 30-32.
28. BROWN A.D.
The survival of airborne microorganisms.
I. Experiments near 0° with some psychophilic bacteria.
Aust. J. Biol. Sci. 1953, 6, 463-471.
29. BROWN A.D.
The survival of airborne microorganisms.
III. Effects of temperature.
Aust. J. Biol. Sci. 1954, 7, 444-451.
30. BUCHANAN L.M. - HARSTAD J.B. - PHILIPPS J.C. - LAFFERTY E. -
DAHLGREN C.M. - DECKER H.M.
Simple liquid scrubber for large volume air sampling.
Appl. Microbiol. 1972, 23, 1140-1144.
31. BUISSIÈRE J. et COLOBERT L.
Normalisation des épreuves destinées à la mise en évidence de
l'équipement enzymatique des microorganismes. Les procédés "univariants".
Path. Biol. 1969, 17, 301-312.

32. BUISSIÈRE J. - NARDON P.
Microméthode d'identification des bactéries :
I. Intérêt de la quantification des caractères biochimiques.
Ann. Inst. Pasteur, 1968, 115, 218-231.
33. CAIRNS J. - DENHARDT D.T.
Effect of cyanide and carbon monoxide on the replication of bacterial DNA in vivo.
J. Mol. Biol. 1968, 36, 335-342.
34. CALOP J.
Les éléments traces dans les poussières atmosphériques recueillies en milieu urbain.
1975, Thèse Pharmacie Grenoble N° 1.
35. CARRAZ M. - BERTOYE A.
Techniques d'études et problèmes posés par la pollution microbienne de l'air.
C.R. 89e Congrès Soc. Sav. Lyon 1964, Sect. Sci. II 1965
Gauthier Villars Ed. 449-510.
36. CARSON G.A. - PAULUS H.J.
A high volume cascade seive impactor.
Am. Ind. Hyg. Ass. J. 1974, 35, 262-267.
37. CHAMBERS L.A. - TABOR E.C. - FOTER M.J.
Protein content of the atmosphere.
V.S. Publ. Health Sem. Tech. Rep. A. 58, 1958.
38. CHOLLET R. - JACCARD G. - PILET P.E.
Contribution à l'analyse de la pollution atmosphérique. Etudes faites à Lausanne.
Pollut. Atmosph. 1967, 49, 217-224.
39. CLARK H.F. - GELDREICH E.E. - JETEK H.L.
The membrane filter in sanitary bacteriology.
Pub. Health Rep. 1951, n° 66, 951-977.
40. COHEN-BAZIRE J. - SISTROM R. - STANIER J.
Pseudomonas.
J. Cell. Comp. Physiol. 1957, 49, 25-37.
41. CORN M. - SANSONE E.B.
Determination of total suspended particulate matter and airborne filter concentrations at three fibrous glass manufacturing facilities.
Environ. Res. 1974, 8, 37-52.

42. COUNTRESS R.J.
 Production of aerosol by high volume samplers.
 A.P.C.A.J. 1974, 24, 605-611.
43. COWN W.B. - KETHLEY T.W. - FINCHER E.L.
 The critical orifice liquid impinger as a sampler for bacterial aerosols.
 App. Microbiol. 1957, 5, 119-124.
44. COX C.S.
 Protecting agents and their mode of action.
 Proc. Ist. Int. Symp. Aerobiol. Berkeley 1963, 345-368.
45. COX C.S.
 The survival of E. Coli sprayed into air and into nitrogen from
 distilled water and from solutions of protecting agents as a function
 of relative humidity.
 J. Gen. Microbiol. 1966, 43, 383-399.
46. COX C.S.
 The survival of E. Coli in nitrogen atmospheres under changing
 conditions of relative humidity.
 J. Gen. Microbiol. 1966, 45, 283-288.
47. COX C.S.
 The aerosol survival of E. Coli B in Nitrogen, Argon and Helium atmos-
 pheres and the influence of relative humidity.
 J. Gen. Microbiol. 1968, 50, 139-147.
48. COX C.S.
 The aerosol survival and cause of death of E. Coli K₁₂.
 J. Gen. Microbiol. 1968, 54, 169-175.
49. COX C.S.
 Aerosol survival of E. Coli B disseminated from the wet and dry states.
 Appl. Microbiol. 1970, 19, 604-607.
50. COX C.S.
 Aerosol survival of P. Tularensis disseminated from the wet and dry
 states.
 Appl. Microbiol. 1971, 21, 482-486.
51. COX C.S.
 Inactivation kinetics of some microorganisms subjected to a variety
 of stresses.
 Appl. Envir. Microb. 1976, 31, 836-846.
52. COX C.S. - BALDWIN F.
 The toxic effect of oxygen upon the aerosol survival of E. Coli.B.
 J. Gen. Microbiol. 1967, 49, 115-117.

53. COX C.S. - BONDURANT M.C. - HATCH M.T.
Effects of oxygen on aerosol survival of radiation sensitive and resistant strains of E. Coli B.
J. Hyg. (G.B.), 1971, 69, 661-672.
54. COX C.S. - GAGEN S.J. - BAXTER J.
Aerosol survival of *Serratia marcescens* as a function of oxygen concentration relative humidity and time.
Canad. J. Microbiol. 1974, 20, 1529-1534.
55. COX C.S. - GOLDBERG L.J.
Aerosol survival of *P. Tularensis* and the influence of relative humidity.
Appl. Microbiol. 1972, 23, 1-3.
56. COX C.S. - HOOD A.M. - BAXTER J.
Method for comparing concentrations of the open air factor.
Appl. Microbiol. 1973, 26, 640-642.
57. CRISTIANI H.
Analyse bactériologique de l'air des hauteurs puisé pendant un voyage en ballon.
Ann. Institut. Pasteur, 1893, 7, 665-671.
58. CUNNINGHAM D.D.
Microscopic examinations of air.
Government Printer, Calcutta, 1872, 58 p.
59. DARK F.A. - CALLOW D.S.
The effect of growth conditions on the survival of airborne E. Coli.
Airborne transmission airborne infection.
Hers. J.F. Winckler K.C. Utrecht 1973, 97-99.
60. DARK F.A. - NASH T.
Comparative toxicity of various ozonized olefines to bacteria suspended in air.
J. Hyg. Camb. 1970, 68, 245-252.
61. DAVIDS D.E. - O'CONNEL D.C.
A man operated particulate aerosol sampler.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers. J.F. Winckler K.C. Utrecht 1973, 42-47.
62. DAVIES C.N.
The separation of airborne dust and particles.
Proc. Inst. Mach. Eng. 1952, 131-185.
63. DAVIS M.S. - BATEMAN J.B.
Relative humidity and the killing of bacteria.
I. Observations on E. Coli and *Micrococcus lysodeikticus*.
J. Bact. 1960, 80, 577-579.

64. DAVIS M.S. - BATEMAN J.B.
Relative humidity and the killing of bacteria.
II. Selective changes in oxidative activity associated with death.
J. Bacteriol. 1960, 80, 580-584.
65. DECKER H.M. - BUCHANAN L.M. - DALHGREEN C.M.
Advances in large volume air sampling.
J. Contam. control. 1969, 8, 13-17.
66. DE MICK G.
The open air factor.
BRONDER ED. Rotterdam 1976.
67. DENIS F.
Contribution à l'étude des bactéries hétérotrophes du milieu marin :
inventaire de 2700 souches.
Thèse Doctorat Etat Sciences 1971, Poitiers n° 128.
68. D.E.O.M.E.
The effect of temperature, humidity and glycol vapour on the viability
of airborne bacteria.
Am. J. Hyg. 1944, 40, 239-250.
69. DESSENS H.
The use of spider"s thread in the study of condensation nuclei.
Q.J.R. Med. Soc. 1949, 75, 23.
70. DIMMICK R.L.
Delayed recovery of airborne *Serratia marcescens* after short-time
exposure to ultra-violet irradiation.
Nature 1960, 187, 251-252.
71. DIMMICK R.L.
Rythmic response of *Serratia marcescens* to elevated temperature.
J. Bact. 1965, 89, 791-798.
72. DIMMICK R.L.
Damage and repair of bacteria in air.
Airborne transmission. Airborne infection.
Hers J.F. Winckler KC Utrecht 1973, 100-102.
73. DORSEY E.L. - BERENDT R.F. - NEFF E.L. Jr.
Effect of sodium fluorescein and plating medium on recovery of
irradiated *E. Coli* and *S. Marcescens* from aerosols.
App. Microbiol. USA 1970, 20, 834-838.
74. DRUETT H.A.
Effect on the viability of microorganisms in aerosols of the rapid
rarefaction of the arrounding air.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers J.F. Winckler K.C., Utrecht, 1973, 90-94.

75. DRUETT H.A. - MAY K.R.
Unstable germicidal pollutant in rural air.
Nature 1968, 220, 395-396.
76. DRUETT H.A. - PACKMAN L.P.
Sensitive microbiological detector for air pollution.
Nature 1968, 218, 699-702.
77. DRUETT H.A. - PACKMAN L.P.
The germicidal properties of ozone olefin mixtures.
J. Appl. Microbiol. 1972, 35, 323-325.
78. DUBUY H.B. - CRISP L.R.
A sieve device for sampling airborne microorganisms.
Public Health Repts. (U.S.) 1944, 59, 829-832.
79. ECKER R.E. - LOCKHART W.A.
A rapid membran filter method for direct counts of microorganisms from small sampler.
J. Bact. 1959, 77, 173-176.
80. EHRLICH R. - MILLER S.
Survival of airborne Pasteurella tularensis at different atmospheric temperatures.
Appl. Microbiol. 1973, 25, 369-372.
81. EHRLICH R. - MILLER S. - WALKER R.L.
Relationship between atmospheric temperature and survival of airborne bacteria.
Appl. Microbiol. 1970, 19, 245-249.
82. EHRLICH R. - MILLER S. - WALKER R.L.
Effects of atmospheric humidity and temperature on the survival of airborne Flavobacterium.
Appl. Microbiol. USA, 1970, 20, 884-887.
83. ERRINGTON F.P. - POWELL E.O.
A cyclone separator for aerosol sampling in the field.
J. Hyg. Camb. 1969, 67, 387-399.
84. FAIRS G.L.
The technique of particle measurment in industrial hygien.
B.J. Ind. Med. 1956, 13, 298-300.
85. FAVERO M.S. - PULEO J.R. - MARSHALL J.H. - OXBORROW G.S.
Comparative levels and types of microbial contamination detected in industrial clean rooms.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 539-551.

86. FERRY R.M. - BROWN W.F. - DAMON E.B.
Studies on the loss of viability of stored bacterial aerosols.
II. Death rates of several non pathogenic organisms in relation to biological and structural characteristics.
J. Hyg. 1958, 56, 125-150.
87. FERRY R.M. - BROWN W.F. - DAMON E.B.
Studies on the loss of viability of bacterial aerosols.
III. Factors affecting death rates of certain non pathogens.
J. Hyg. 1958, 56, 389-409.
88. FERRY R.M. - FARR L.E. Jr - ROSE J. - BLAU M.R.
A study of freshly generated aerosols of Micrococcus candidus and Escherichia Coli.
J. Inf. Diseases, 1951, 88, 256-267.
89. FERRY R.M. - MAPLE T.G.
Studies on the loss of viability of stored bacterial aerosols.
I. Micrococcus candidus.
J. Infect. Dis. 1954, 95, 142-159.
90. FIELDS N.D. - OXBORROW G.S. - PULEO J.R. - HERRING G.M.
Evaluation of membran filter field monitors for microbiological air sampling.
Appl. Microbiol. 1974, 27, 517-520.
91. FIRST M.N. - SILVERMAN L.
Air sampling with membran filters.
A.M.A. Arch. Ind. Hyg. Occup. 1953, 7, 1-11.
92. FLUGGE C.

Zeitschr. f. Hyg. 1897, 25, 179-181.
93. FONTANGES R. - ISOARD P.
Etude des microconstituants de l'atmosphère de la région lyonnaise à l'aide d'un nouveau collecteur à grand volume.
Trib. Cebedeau, 1968, 217, 874-880.
94. FONTANGES R. - JOUBERT J. - LAURENT A. - DELAUNAY J. - EYRAUD Ch. et COLOBERT L.

Effet des champs ionisés sur la vitalité et le taux de mutation des bactéries en suspension dans l'air.
Ann. Inst. Pasteur, 1967, 112, 173-181.
95. FRANKLAND P.F.

A new method for the quantitative estimation of the microorganism present in the atmosphere.
Phil. Trans. 1887 - 178 B, 113-152.

96. FRY R.H.
The preservation of bacteria
in "Application of freezing and drying". pp. 215-252.
Edited by R.J.C. Harris - Academic Press Inc. New-York, 1954
97. FUCHS N.A.
The mechanics of aerosols.
London - Perganan Press 1964.
98. FULTON J.D.
Microorganisms of the upper atmosphere.
III. Relationship between altitude and micropopulation.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 237-240.
99. FULTON J.D.
Microorganisms of the upper atmosphere.
IV. Microorganisms of a land air mass as in traverse ocean.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 241-244.
100. FULTON J.D.
Microorganisms of the upper atmosphere.
V. Relationship between frontal activity and altitude.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 245-250.
101. FULTON J.D. - MITCHELL R.B.
Microorganisms of the upper atmosphere.
II. Microorganisms in two types of air masses at 690 meter over a city.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 232-236.
102. GERMAN A. - PANOUSE-PERRIN J. - HERMANN M.
Détection et dénombrement rapides des bactéries de l'air par micro-
cultures et mise en évidence de leurs déshydrogénases.
Bull. Acad. Nat. Med. 1963, 147, n° 7, 162-165.
103. GERONE P.J. - COUCH R.B. - KEEFER G.U. - DOUGLAS R.G. - DERRENBACHER E.B. -
KNIGHT V.
Assessment of experimental and natural vital aerosols.
Bact. Rev. 1966, 30, 576-584.
104. GOETZ A.
Application of molecular filter membranes to the analysis of aerosols.
J. Amer. Pubb. Health. Ass. 1953, 43, 150-159.
105. GOLDBERG L.J. - FORD I.
The function of chemical additives in enhancing microbiol survival
in aerosols.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers. J.F. Winckler K.C. Utrecht 1973.

106. GOLDBERG L.J. - WATKINS H.M.S. - BOERKE E.E. - CHATIGNY M.A.
The use of a rotating drum for the study of aerosols over extended periods of time.
Am. J. Hgg. 1958, 68, 85-93.
107. GOODLOW R.J. - LEONARD F.A.
Viability and Infectivity of microorganisms in experimental airborne infection.
Bact. Rev. 1961, 25, 182-187.
108. GRAHAM P.H.
The application of computer techniques to the taxonomy of the root-nodule bacteria of legumes.
J. Gen. Microbiol. 1964, 35, 511-517.
109. GREENBURG L. - SMITH G.W.
A new instrument for sampling aerial dust.
U.S. Bureau of Mines Rept. Invest. 1922 N° 2392.
110. GREENE V.W. - VESLEY D. - BOND R.G. - MICHAELSEN G.S.
Microbiological contamination of hospital air.
Appl. Microbiol. 1962, 10, 561-571.
111. GREGORY P.H.
The microbiology of the atmosphere.
(Z.N.D. Edition). Leonard Hill Ltd, ed. Londres 1973.
112. GROSCLAUDE G. - HERMIER J.
A sampler for enumeration of airborne microorganisms.
Laboratory Practice 1961, 10, 889.
113. GUICHERIT R.
Photochemical smogformation in the Netherlands. Report G. 646.
T.N.O. Research Institute for Environmental Hygiene. Atmospheric Pollution Division Delft. 1975.
114. GUICHERIT R. - HOOGEVEEN A. and LINDQUIST F.
Die Herkunft von Cl-C5 Kahlen wasserstaffen im Haag und Delft.
Staub. Reinhalt. Luft. 1975, 35, 89-95.
115. GUICHERIT R. - JELTES R. and LINDQUIST F.
Determination of the ozone concentration in outdoor air near Delft.
The Netherlands Environm. Pollut. 1972, 3, 91-110.
116. GUITERAS A.F. - FLETT L.H. - SHAPIRO R.L.
A quantitative method for determining the bacterial contamination of dishes.
Appl. Microbiol. 1954, 2, 100-101.

117. GUNDERMAN K.O.
 Untersuchungen zur reduzierung des luftkeimgehalter in räumen mit
 kontinuierlicher keimfresetzung.
 Zbl. Bakt. (B), 1974, 159, 31.49.
118. GUYTON H.G. - BUCHANAN L.M. - LENSE F.T.
 Evaluation of respiratory protection of contagion masks.
 Appl. Microbiol. 1956, 4, 141-143.
119. GUYTON H.G. - PORTER R. - LENSES F.P.
 Evaluation of soluble gelatine foam for possible use as a medium for
 sampling airborne microorganisms.
 Mem. Rep. n° 19, 1955.
 Physical defense Division - Fort Detrick.
120. HALL H.A.

 Publ. Health. Serv. Publ. US. Gout. Washington DC 1959
121. HANSEN N.H. - RIEMANN H.
 Factors affecting the heat resistance of nonsporing organisms.
 J. Appl. Bact. 1963, 26, 314-333.
122. HAMBLETON P.
 Repair of wool damage in E. Coli recovered from in aerosol.
 J. Gen. Microbiol. 1971, 69, 81-88.
123. HAMMOND E.C.
 Ammonium alginate wool as a filter for collecting microorganisms
 from large volume of air.
 J. Gen. Microbiol. 1958, 19, 267-270.
124. HARPER G.J.
 The influence of urban and rural air on the survival of microorganisms
 exposed on microthreads.
 In : IVth. International Symposium on Aerobiology.
 J.F. Ph. Hers and K.C. Winkler (eds) Oosthoek Publ. Comp. UTRECHT.
125. HARRINGTON J.B. - GILL G.C. - WARR B.R.
 High efficiency pollen samplers for use in clinical allergy.
 J. Allergy, 1959, 30, 357-362.
126. HARRIS M.M. - HENDRICKS S.L. - HELD J.R.
 Isolation of Brucella suis from air of slaughterhouse.
 Publ. Health. Rep. Wash. 1962, 77, 602-608.
127. HARSTAD J.B. - DECKER H.M. - WEDUM A.G.
 Use of ultraviolet irradiation in a room air conditioner for removal
 of bacteria.
 Appl. Microb. 1954, 2, 148-151.

128. HARRISON A.P. - LAWRENCE F.R.
Phenotypic, genotypic and chemical changes in starving population of *Aerobacter aerogenes*.
J. Bact. 1963, 85, 742-750.
129. HASENCLEVER D.
Ein neuer thermale Präzipitator mit Heizdraht und seine Leistung.
Staub 1962, 22, 99-102.
130. HATCH M.T. - BONDURANT M.S. - EHRESMAN D.W.
Analysis of repair systems and the genetic basis of aerosol resistance in derivatives of *E. Coli B*.
Airborne transmission airborne infection. HERS J.F. WINCKLER K.C.
UTRECHT p. 103-105.
131. HATCH M.T. - DIMMICK R.L.
A study of dynamic aerosols of bacteria subjected to rapid changes in relative humidity.
Proc. I. Int. Symp. Aerobiol. 1963, 265-281,
132. HATCH M.T. - DIMMICK R.L.
Physiological responses of airborne bacteria to shifts in relative humidity.
Bact. Rev. 1966, 30, 597-603.
133. HAYARANA I. - POON C.P.
Short storage studies on the effect of temperature and relative humidity on the viability of airborne bacteria.
Amer. Ind. Hyg. Ass. J. 1965, 26, 150-160.
134. HECKLY R.J.
Responses of microorganisms to dehydration and rehydration.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers J.F. Winckler KC Utrecht 1973 , 103-105.
135. HEDBERG M.
Acetamide agar medium selective for *Pseudomonas aeruginosa*.
Appl. Microbiol. 1969, 17, 481-486.
136. HEMEON W.C. - HAINES G.F. - IDE M.M.
Determination of haze and smoke concentration by filter paper samplers.
A.P.C.A.J. 1953, 3, 22-28.
137. HERMANN M.
Les méthodes rapides de détection et de dénombrement des bactéries viables de l'air.
Thèse Doct. Uni. Paris 1965, Ed. A.G.E.

138. HESS G.E.
Effect of oxygen on aerosolized *Serratia Marcescens*.
Appl. Microb. 1965, 13, 781-787.
139. HESS G.E. - SHON M.
Selection of thermostable *Serratia marcescens* from logarithmic phase cultures as a mean of inducing synchronous growth.
J. Bact. 1962, 83, 781-784.
140. HESSE W.
Bemerkungen zur quantitative Bestimmung der Mikro organismen in der Luft. Mikoorganismen et Z.Hyg. Infektkr. 1888, 4, 19-21.
141. HINTON N.A. - MALTMAN J.R. - ORR. J.H.
The effect of dessication on the ability of *St. pyogenes* to produce disease in mice.
Amer. J. Hyg. 1960, 71, 343-346.
142. HOLLANDAER A. - DELLA VALLE J.M.
A simple device for sampling airborne bacteria.
Pub. Health. Rep. 1939, 54, 574.
143. HOOD A.M.
Open air factors in enclosed systems.
J. Hyg. Camb. 1974, 72, 53-60.
144. HURST A. - HUGUES A. - COLLINS-THOMPSON D.L.
Relationship between loss of magnesium and loss of salt tolerance after sublethal heating of *Staphylococcus aureus*.
Canad. J. Microbiol. 1974, 20, 1153-1158.
145. ISRAELI E.
Effect of aerosolization and lyophilisation on macromolecular synthesis in *E. Coli*.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers. J.F. Winckler KC Utrecht 1973, 110-113.
146. JACKSON H.L.
Particle-molecule collection by sonic flow impingers.
APCA J. 1974, 24, 569-575.
147. JACQ J.
Contribution à l'étude de la formation et de l'identification des groupes.
Thèse Sciences LYON 1972.
148. JACUMIN W.J. - JOHNSTON D.R. - RIPPERTON L.A.
Exposure of microorganisms to low concentrations of various pollutants.
Amer. Ind. Hyg. Ass. 1964, 25, 595-600.

149. JOLY B.
Contribution à l'identification des espèces du genre *Bacillus* par l'étude normalisée des caractères enzymatiques.
Intérêt en taxonomie.
Thèse Pharmacie Clermont-Ferrand 1973.
150. JONES W.P.
Development of the venturi-scrubber
Industr. Engin. Chem. 1949, 41, 2424.
151. KELLY L.D. - PADY S.H.
Microbiological studies of air over some non arctic regions of Canada.
Canad. J. Bact. 1953, 31, 90-101.
152. KELLY C.D. - PADY S.M.
Microbiological studies of air masses over Montreal during 1950-1951.
Canad. J. Bact. 1954, 32, 591-600.
153. KETHLEY T.W. - FINCHER E.L. - COWN W.B.
The effect of sampling method upon the apparent response of airborne bacteria to temperature and relative humidity.
J. Infec. Dis. 1957, 100, 97-102.
154. KETHLEY T.W. - GORDON M.T. - ORR C.J.
A thermal precipitator for aerobacteriology.
Science 1952, 116, 368-369.
155. KINGSTON D.
Selective media in air sampling : a review.
J. Appl. Bact. GB. 1971, 34, 221-232.
156. KRASSILNIKOW N.A.
Diagnostik der bacterie und actinomyceten.
V.E.B. Gustat Fisher Verlag Jena 1959.
157. KROTOV Y.A.
Nouvel appareil pour l'étude microbiologique de l'air (en Russe).
Hygiène et Santé, URSS 1953, 4, 11-15.
158. KUNDSIN R.B.
Characterization of *Mycoplasma* aerosols as to viability, particle size and lethality of UV irradiation.
J. Bact. 1966, 91, 942-944.
159. KUNDSIN R.B.
Aerosols of mycoplasma, L forms and bacteria = comparizon of particle size viability and lethality of Ultraviolet radiation.
Appl. Microbiol. USA 1968, 16, 143-146.

160. KVITTINGEN J. - MAUSETH O.
The roto-rod sampler : an instrument useful for bacterial examination of air.
Acta. Path. Microbiol. Scand. 1967, 69, 77-82.
161. LABONDE J. - COIN L.
Microbiologie des atmosphères confinées et libres de Paris.
Pollut. At. 1964, 6, 160-165.
162. LAPAGE S.P.
Probabilistic identification of bacteria.
Symp. rapid methods and automation in microbiology.
Stockholm 1973.
163. LAPAGE S.P.
Practical aspects of probabilistic identification of bacteria.
Int. J. Syst. Bact. 1974, 24, 500-507.
164. LAPAGE S.P. - BASCOMB S. - WILLCOX W.R. - CURTIS M.A.
Computer identification of bacteria automation, mechanization and data handling in microbiology.
Baillie A. Gilbert R.J. Ed.
Acad. Press. NY. 1970, 1-22.
165. LAPPLE C.E.
Dust and mist collection.
Chemical Engineer's Handboock J.M. Perry Ed. 4nd Ed; Mc. GRAW - HILL NY.
166. LARSON E.W.
A perspective on environmental effects research.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers J.F. Winckler KC Utrecht 1973, 81-86.
167. LARSON E.W. - DEMCHAK P. - DOMINIK J.W.
Comparison between the single stage impacton device and multistage liquid impinger systems for sampling and sizing biological aerosols.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers J.F. Winkler KC Utrecht 1973, 37-41.
168. LEACH R.H. - SCOTT W.J.
The influence of rehydration on the viability of dried microorganisms.
J. Gen. Microbiol. 1959, 21, 295-307.
169. LEE R.E. - GARBETT M.
Carboxymethylcellulose ether media for cold-water aerosol sampling.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 133-134.

170. LEIGHTON P.A.
Photochemistry of air pollution.
New York Acad. Press. 1961.
171. LEITH W.C.
Rotating concentric homogeneous turbulence gas scrubber
EPA fine Particle Scrubber Symposium.
SAN DIEGO (Californie) May 1974.
172. LEIVE L.
Studies on the permeability change produced in Caliform Bacteria
by Ethylene diamine tetra acetate.
J. Biol. Chem. 1968, 243, 2373-2380.
173. LEMON H.M.
A method for collection of bacteria from air and textiles.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1943, 54, 298-301.
174. LIDWELL O.M.
Impaction sampler for size grading airborne bacteria carying particles.
J. Scient. Inst. 1959, 36, 3-8.
175. LIDWELL O.M. - NOBLE W.C.
A modification of the Andersen sampler for use in occupied environment.
J. Appl. Bacteriol. GB 1965, 28, 280-282.
176. LION M.B. - AVI-DOR Y.
Oxygen-induced inactivation of NADH - oxidase in lyophilized cells
of E. Coli.
Israel J. Chem. 1963, 1, 374-378.
177. LION M.B. - BERGMANN E.D.
The effect of oxygen on freeze-dried E. Coli.
J. Gen. Microbiol. 1961, 24, 191-200.
178. LIPPMANN M. - CHAN T.L.
Calibration of dual-inlet cyclones for "respirable" mass sampling.
Amer. Ind. Hyg. Ass. J. 1974, 35, 189-200.
179. LITTLEFIELD J.B. - FEICHT F.L. - SCRENK H.H.
The bureau of mines midget impinger for dust sampling.
Bureau of mines Inf. Circ; n° 5360, 1937.
180. LUCKIESH M. - TAYLOR A.H. - HOLLADAY L.L.
Sampling devices for airborne bacteria.
J. Bact. 1946, 52, 55-65.

181. LUCKIESH M. - TAYLOR A.H. - KNOWLES T.
Sampling devices for determining the bacterial content of air.
Rev. sci. Instrum. 1949, 20, 73-77.
182. LURIE M.B. - HEPPLESTON A.G. - ABRAMSON S.
An evaluation of the method of quantitative airborne infection and its use in the study of the pathogenesis of tuberculosis.
Am. Rev. Tuberc. 1950, 61, 765-797.
183. MACDADE - HALL L.B.
An experimental method to measure the influence of environmental factors on the viability and the pathogenicity of Stap. Aureus.
Am. J. Hyg. 1963, 77, 98-108.
184. MAC DADE J.J. - HALL L.B.
Survival of Staphylococcus aureus in the environment.
I. Exposure on surfaces.
Amer. J. Hyg. 1963, 78, 330-337.
185. MAC DADE J.J. - HALL L.B.
Survival of Staphylococcus aureus in the environment.
II. Effect of elevated temperature on surface exposed staphylococci.
Am. J. Hyg. 1964, 80, 184-191.
186. MAC DADE J.J. - HALL L.B.
Survival of gram negative bacteria in the environment.
I. Effect of relative humidity on surface-exposed organisms.
Am. J. Hyg. 1964, 80, 192-204.
187. MADDOX R.L.
Observations on the use of the aeroconiscope, or air-dust collecting apparatus.
Monthly Microsc. J. 1871, 5, 45-49.
188. MAGILL P.L. - ROYLSTON M. - MAC LEOD J.A. - CADLE R.O.
Sampling certain atmospheric contaminants by a small scale Venturi scrubber.
Anal. Chem. 1950, 22, 1174-1177.
189. MAIER K.M. - VOGGEL K.
Wasser lösliche Filter und ihre Verwerdung in der Luftheimuntersuhung.
GIT Fuch. Loh. Dtsch. 1965, 9, 119-120.
190. MAISONNET M.
Contribution à l'étude des germes de l'air. Nouvel appareil pour l'analyse bactériologique de l'air.
Thèse Med. Paris 1955
191. MAISONNET M.
Etude bactériologique de l'air marin au large de la côte africaine.
Rev. Hyg. Med. Soc. 1959, 7, 62-70.

192. MAISONNET M.
Etude bactériologique de l'air de la forêt subtropicale et de la savane. Déduction épidémiologique.
Rev. Hyg. Med. Soc. 1959, 7, 162-169.
193. MAISONNET M. - PLANTY C.P.
Flore microbienne de l'air marin. Etude bactériologique et climatique.
Rev. Hyg. Med. Soc. 1961, 9, 533-568.
194. MAISONNET M. - SERIS H. - AUFFRET R.
Organisation de l'appareillage à bord d'avions conventionnels en vue de la détection des germes de l'air en altitude.
Rev. Med. Aer. Fr. 1965, 4, 52-53.
195. MAISONNET M. - SERIS H. - AUFFRET R.
Prélèvement de germes en altitude. Premiers résultats.
Rev. Med. Aer. et Spat. 1967, 6, 25-28.
196. MALLIGO J.E. - IDOINE L.S.
Single-stage impaction device for particle sizing biological aerosols.
App. Microbiol. 1964, 12, 32-36.
197. MALTMAN J.R.
Bacterial responses to dessication and rehydration.
Proc. Ist. Int. Symp. Aerobiol. Berkeley 1963, 292-303.
198. MALTMAN J.R.
Influence of dessication and rehydration on microorganisms.
Rev. Hyg. Med. Soc. 1970, 18, 395-407.
199. MAMMARELLA L. - D'ARCA S.U.
Relation entre la concentration bactérienne et la pollution par les poussières dans les zones d'air libres d'une grande ville.
Med. del. 1967, 58, 113-121.
200. MARMUR J. - DOTY P.
Thermal renaturation of deoxyribonucleic acide.
J. Mol. Biol. 1961, 3, 585-594.
201. MAURANGES P.
La flore microbienne de l'air marin.
Sem. Hop. 1962, 38, 367-370.
202. MAY K.R.
The cascade impactor : an instrument for sampling coarse aerosol.
J. Sci. Instrum. 1945, 22, 187-195.

203. MAY K.R.
A cascade impactor with moving slides.
Arch. Indust. Health. 1956, 13, 481-486.
204. MAY K.R.
Calibration of a modified Andersen Bacterial aerosol sampler.
Appl. Microb. 1964, 12, 37-43.
205. MAY K.R.
Prolongation of microbiological air sampling by a monolayer agar gel.
Appl. Microbiol. 1969, 18, 513-515.
206. MAY K.R.
Developments in high volume sampling of aerosols.
Airborne transmission, airborne infection.
Hers J.F. Winckler KC, Utrecht 1973, 27-32.
207. MAY K.R. - DRUETT H.A.
The preimpinger : a selective aerosol sampler.
Brit. J. Ind. Med. 1953, 10, 141-151.
208. MAY K.R. - DRUETT H.A.
A microthread technique for studying the viability of microbes in a simulated airborne state.
J. Gen. Microb. 1968, 51, 753-366.
209. MAY K.R. - DRUETT H.A. - PACKMAN L.P.
Toxicity of open air to a variety of microorganisms.
Nature, 1969, 221, 1146-1147.
210. MAY K.R. - HARPER G.J.
The efficiency of various liquid impinger samplers for bacteriol aerosols.
Brit. J. Ind. Med. 1957, 14, 287-289.
211. MIQUEL P.
Des procédés usités pour le dosage des bactéries atmosphériques.
Ann. Inst. Pasteur 1888, 2, 364-373.
212. MIQUEL P.
Sur un procédé simple applicable à l'analyse bactériologique de l'air.
Ann. Micrographic 1895, 7, 103-107.
213. MITCHELL R.B. - FULTON J.D. - ELLINGSON H.V.
A soluble gelatin form sampler for airborne microorganisms at surface level.
Am. J. Public. Health. 1954, 44, 1334-1339.

214. MONK G.W. - MAC CAFFREY P.A.
The effect of sorbed water on the death rate of washed *Serratia marcescens*.
J. Bacteriol. 1957, 73, 85-88.
215. MORRISON H.G. - CORMACK D.V.
Variation of the X-Ray sensitivity of *Serratia marcescens* with relative humidity.
Nature 1965, 208, 91-93.
216. MOULTON S. - PUCK T. - LEMON H.
An apparatus for determination of the Bacterial content of air.
Science, 1943, 97, 51-52.
217. N.A.S.A.
Nasa policy directives NPD 8020-10 A
Août 1972, Nasa Washington DC.
218. NASHAM C.S.
Description de filtres pour recueillir les virus atmosphériques.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 497.
219. NEERING H. - PALYANA F. - de MIK G.
Die Konzentration von Bakterien in Seeluft.
Medish. Biologisch. Laboratorium RVO-TNO MBL 1971, 6,
220. NOBLE W.C. - LIDWELL O.M. - KINGSTON D.
The size distribution of airborne particles carrying microorganisms.
J. Hyg. GB 1963, 61, 385-391.
221. NOLLER E. - SPENDLOVE J.C.
An appraisal of the soluble gelatin foam filter as a sampler for Bacterial Aerosols.
Appl. Microbiol. 1956, 4, 300-306.
222. O'CONNEL D.C. - WIGGINS N.J.B. - PIKE G.P.
New technique for the collection and isolation of airborne microorganisms.
Science, 1960, 131, 359-
223. O'NEAL H.E. - BLUMSTEIN C.
A new mechanism for gas ozone-olefin reactions.
Int. J. Chem. 1973, 5, 397-399.
224. ORR C.Jr - GORDON M.T. - KORDECKI M.C.
Thermal precipitation for sampliny air borne microorganisms.
Appl. Microb. 1956, 4, 116-118.
225. PADY S.M. - KRAMER C.L.
Diurnal periodicity in airborne bacteria.
Mycologia 1967, 59, 714-716.

226. PASTEUR L.
Expériences relatives aux générations dites spontanées.
C.R. Acad. Sci. Paris 1860, 50, 303-307.
227. PASTEUR L.
Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère.
Examen de la doctrine des générations spontanées.
Ann. Sci. Nat. (Zool.) 4e Série 1861, 16, 5-98.
228. PAULE R.
Contribution à l'étude biochimique du genre *Lactobacillus* par une méthode normalisée.
Thèse Pharmacie LYON 1971.
229. PAYNE J.I. - CAMPBELL J.N.
The effect upon micrococcus viola gabrielse of short-term exposure to ultraviolet light.
J. Gen. Microbiol. 1965, 38, 343-356.
230. PENY J. - BUISSIÈRE J.
Microméthode d'identification des bactéries.
II. Identification du genre *Staphylococcus*.
Ann. Inst. Pasteur, 1970, 118, 10-18.
231. PERKINS W.A.
The rotorod sampler.
IInd Symp. Ann. Rep. Aerosol. Stanford. 1957.
232. PETO S. - POWELL E.O.
The assessmental aerosol concentration by means of the Andersen sampler.
J. Appl. Bacteriol. GB, 1970, 33, 582-588.
233. PETRAS E.
Zur Isolierung von Luft neven mittels.
Arch. Mikrobiol. Dtsch. 1966, 55, 93-109.
234. PETRI R.J.
Eine neue method Bacterien und Pilzsporen in der luft nachzmeinsen und zu zählen.
Z. Hyg. Infht, 1888, 3, 1-45.
235. PHELPS E.B. - BUCHBINDER L.
Studies on microorganisms in simulated room environments.
I. A study of the performance of the wells air centrifuge and of the settling rates of bacteria through the air.
J. Bact. 1941, 42, 321-344.

236. POMPEANI J.
Recherches sur les microorganismes de l'atmosphère et analyses bactériologiques de l'air d'Ajaccio.
Thèse de Pharmacie Montpellier 1911.
237. POON C.P.
Studies on the instantaneous death of airborne E. Coli.
Am. J. Epid. 1966, 84, 1-9.
238. PROCTOR B.E. - PARKER B.N.
Microbiology of the upper air : an improved apparatus and technique for upper air investigations.
J. Bact. 1938, 36, 175-181.
239. PREVOT A.R.
Traité de systématique bactérienne.
DUNOD Paris 1961.
240. RANDALL C.N. - LEDBETTER J.O.
Bacterial air pollution from activated sludge unitis.
Amer. Ind. Hyg. Ass. J. 1966, 27, 506-519.
241. RANZ W.E. - WONG J.B.
Jet impactors for determining the particle size distribution of aerosols.
Arch. Ind. Hyg. Occup. Med. 1952, 5, 464-477.
242. RAZUMOV A.A.
New methods for the quantitative and qualitative of water microflora.
Mikrobiol. 1933, 2, 346-352.
243. RECORD B.R. - TAYLOR R. - MILLER D.J.
The survival of E. Coli on drying and rehydratation.
J. Gen. Microbiol. 1962, 28, 585-598.
244. REMY H. in FUCHS W.A.
The mechanics of aerosols.
London - Pergamon Press 1964.
245. RETCHMENSKIY S.S. - MITTCHENKO V.P.
Problems of Virology.
URSS 1958, n° 2, p. 101.
246. RICHARDS M.
A water soluble filter for trapping airborne microorganisms.
Nature Londres 1955, 176, 559-560.
247. RICHARDS O.W. - KRABEK W.B.
Visibilizing microorganisms on membrane filter surface.
J. Bact. 1954, 67, 613-

248. RICHET G.
Un appareillage à prélèvement d'air.
C.R. Acad. Sc. 1909 - 98,
249. RILEY R.L. - KAUFMAN J.E.
Effect of relative humidity on the inactivation of Airborne *S. marcescens* by ultraviolet radiation.
Appl. Microbiol. 1972, 23, 1113-1120.
250. ROSEBURY T.
Experimental airborne infection
Williams et Wilkins Co. Baltimore 1947, 222 p.
251. ROSENBLATT P. - LAHER V.K.
Sampling devices for determining the bacterial content of air.
Rev. Sci. Instr. 1949, 20, 73-77.
252. ROTTER M. - KOLLER W.
Sammling von luftkeimen mit gelatine filtern.
Zbl. Bakt. B. 1973, 157, 257-270.
253. SATORY - LANGLOIS
Poussières et microbes de l'air.
Poiwat Paris 1912.
254. SAWYER K.F. - WALTON W.H.
The conifuge. A size separating sampling device for airborne particles.
J. Sci. Instr. 1950, 27, 272-276.
255. SAYER W.J. - Mc KNIGHT N.M. - WILSON H.W.
Hospital airborne bacteria estimated by the Anderson sampler versus the gravity settling culture plate.
Amer. J. Clin. Path. 1972, 58, 558-566.
256. SHRENK H.H. - FEICHT G.L.
Bureau of mines impinger.
Bureau of mines inf. Circ. n° 7076, 1939.
257. SCHRODER W.
Luftkeimbestinnung durch Filtrationverfahrn.
G.I.T. Fachz - Lab. Dioch. 1968, L2, 747-748.
258. SERAT W.F. - BUDINGER F.E. Jr - MUELLER D.K.
Evaluation of biological effects of air pollutants by use of luminescent bacteria.
J. Bacteriol. 1965, 90, 832-833.

259. SETTERLIND A.N.
Horne-assembled instruments.
in : Encyclopedia of instrumentation for industrie hygiene.
Ann. Harbor Univ. 1956, 28-29.
260. SHANK J.L. - SILLIKER J.H. - HARPER R.H.
The effect of Nitric Oxide on Bacteria.
Appl. Microbiol. 1962, 10, 185-189.
261. SHEWAN J.M.
The microbiology of sea water in : G. Borgstrom (Editor).
Fish as food : Production, biochemistry microbiology.
Academic Press New York NY 1960.
262. SHIPE E.L. - TYLER H.E. - CHAPMAN O.N.
Bacterial aerosols samplers
II. Development and evaluation of the shipe sampler.
App. Microb. 1959 - 7, 349-354.
263. SILVERMAN L. - VILES F.J.
A high volume air sampling and filter weighing method for certain aerosol.
J. Ind. Hyg. Toxicol. 1948 30, 124-128.
264. SINEL'NIKOVA E.P.
Filtres liquides à mousse pour la détection d'aérosols microbiens
(en Russe).
J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunol. URSS 1963, 40, 49-53.
265. SNEATH P.H.A.
The application of computers to taxonomy.
J. Gen. Microbiol. 1957, 17, 201-226.
266. SOLARI A.A. - DATO A.A.
Use of a selective enrichment medium for the isolation of pseudomonas aeruginosa from feces.
J. Bact. 1962, 84, 190-195.
267. SPURNY K.R. - HAVLOVA J. - WILDER B.
Aerosol filtration by means of nuclepore filters.
Envir. Sci. Tech. 1974, 8, 758-761.
268. STAIR MAND C.J.
The design and performance of modern gas-cleaning equipment.
J. Inst. Fuel. 1956, 22, 58-61.
269. THORNLEY M.J.
Radiation resistance among bacteria.
J. Appl. Bact. 1963, 26, 334-345.

270. TILAK S.T. - KULKARNI R.L.
A new air sampler.
Experientia, Suisse, 1970, 26, n° 4, 443-444.
271. TIMMONS D.E. - FULTON J.D. - MITCHELL R.B.
Microorganisms of the upper atmosphere.
I. Instrumentation for isokinetic air sampling at altitude.
Appl. Microb. 1966, 14, 229-231.
272. TORLONI M. - BORZANI M.
A filtration method for the determination of concentration of microorganisms in air.
App. Microb. 1958, 6, 252-254.
273. TRILLAT A.
C.R. Acad. Sci. 1920, 170, 538-
274. TRILLAT A.

C.R. Acad. Sc. 1922, 175, 328-
275. TRILLAT A.

C.R. Acad. Sci. 1915, 160, 155-159.
276. TROMP S.W.
Medical biometeorology.
Elsevies Ed. 1965.
277. VANDROUX J.C. - BADOR A. - CALOP J. - ISOARD P.
Dosage par fluorescence X des principaux -el-ements contenus dans les particules atmosphériques de taille inférieure à 10 microns.
Congrès fluo. X NICE 1974.
278. VERCHIGORA A.E.
Méthode de recherches microbiologiques sur les aérosols (en Russe).
Kiev 1960.
279. VERON M.
Taxonomie numérique des vibrions et de certaines bactéries comparables
I. Méthode et matériel taxonomiques utilisés.
Ann. Inst. Pasteur 1966, III, 314-3333.
280. VESLEY D. - KEENAN K.H. - HALBERT M.M.
Effect of time and temperature in assessing microbial contamination on flat surfaces.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 203-205.

281. WATSON H.H.
The dust-free space surrounding hot bodies.
Trans. Faraday Soc. 1936, 32, 1073-1081.
282. WEBB S.J.
Factors affecting the viability of airborne bacteria.
I. Bacteria aerosolized from distilled water.
Can. J. Microb. 1959, 5, 649-669.
283. WEBB S.J.
Factors affecting the viability of airborne bacteria.
III. The role of bonded water and protein structure in the death of airborne cells.
Can. J. Microb. 1960, 6, 89-105.
284. WEBB S.J.
Factors affecting the viability of airborne bacteria :
IV : The inactivation and reactivation of airborne *S. marcescens* by UV and visible light.
Canad. J. Microb. 1961, 7, 607-619.
285. WEBB S.J.
Factors affecting the viability of airborne bacteria.
V. The effect of dessication on some metabolic systems of *E. Coli*
Can. J. Microbiol. 1961, 7, 621-632.
286. WEBB S.J.
Radiation, relative humidity and the mechanism of microbiol death in aerosols.
Prx. 1 st. Int. Symp. Aerobiol. Berkeley Californie 1963, 369-379.
287. WEBB S.J.
The effect of relative humidity and light on air-dried organisms.
J. Appl. Bact. 1963, 26, 307-313.
288. WEBB S.J.
Possible role of water and inositol in the structure of nucleoproteins.
Nature 1963, 198, 785-787.
289. WEBB S.J.
Bound water, metabolites and genetic continuity.
Nature, 1964, 203, 374-377.
290. WEBB S.J.
Bound water in Biological integrity.
Springfield, Illinois : Charles C. Thomas, 1965.

291. WEBB S.J.
The influence of oxygen and inositol on the survival of semidried microorganisms.
Can. J. Microbiol. 1967, 13, 733-742.
292. WEBB S.J.
The effects of oxygen on the possible repair of dehydration damage by E. Coli.
J. Gen. Microbiol. 1969, 58, 317-326.
293. WEBB S.J. -- CORMACK D.V. - MORRISON H.G.
Relative humidity, inositol and the effect of radiation on air-dried microorganisms.
Nature, 1964, 201, 1103-1105.
294. WEBB S.J. - DUMASIA M.D.
Bound water, inositol and the effect of X rays on E. Coli.
Can. J. Microbiol. 1964, 10, 877-885.
295. WEBB S.J. - DUMASIA M.D. - SINGH BHORJEE J.
Bound water, inositol and the biosynthesis of temperate and virulent bacteriophages by air dried E. Coli.
Can. J. Microbiol. 1965, 11, 141-150.
296. WELLS W.F.
Apparatus for study of bacteriol behavior of air.
Am. J. Publ. Heath 1933, 23, 58-59.
297. WELLS W.F. - ZAPPOSODI P.
The effects of humidity on β streptococci atomized in air.
Science 1942, 96, 277-278.
298. WHEELER S.M. - FOLEY G.E. - JONES T.D.
A bubbler pump method for quantitative estimation of bacteria in the air.
Science 1941, 94, 445-446.
299. WILLIAMS R.E.O.
Airborne staphylococci in the surgical ward.
J. Hyg. G.B. 1965, 65, 207-217.
300. WILLIAMS R.E. - HIRCH A.
The detection of streptococci in air.
J. Hyg. (Lond.) 1950, 48, 504-512.
301. WINSLOW G.E.
The role of the molecular filter membrane in the fields of public health.
Amer. J. Pubb. Health. 1953, 43, 766-768.

302. WOESE C.
Further studies on the ionizing radiation inactivation of bacterial spores.
J. Bact. 1959, 77, 38-42.
303. WOLF H.N. - SKALLIY P.
Sampling microbiological aerosols.
U.S. Pub. Health. M n° 69, Washington D.C. 1959.
304. WON W.D. - ROSS H.
Effect of diluent and relative humidity on apparent viability of airborne *Pasteurella pestis*.
Appl. Microbiol. 1966, 14, 742-745.
305. WON W.D. - ROSS H.
Behavior of microbiol aerosols in a - 30° C environment.
Cryobiology 1968, 4, 337-340.
306. WON E. - ROSS H.
Reaction of airborne *Rhizobium Melitoti* to same environment of factors.
Appl. Microbiol. 1969, 18, 555-557.

-:-:-:-

TABLE DES MATIERES

=====

| | |
|---|-----|
| <u>PREMIERE PARTIE</u> : GENERALITES | 1 |
| Introduction | 3 |
| CHAPITRE 1 : Notions de météorologie | 7 |
| CHAPITRE 2 : Devenir des bactéries dans
l'atmosphère | 17 |
| CHAPITRE 3 : Les techniques de prélèvement | 59 |
| CHAPITRE 4 : Les milieux de recueil et de
diagnostic | 99 |
| CHAPITRE 5 : Les résultats obtenus | 105 |
| <u>DEUXIEME PARTIE</u> : MATERIELS ET METHODES | 111 |
| CHAPITRE 1 : Piégeage des microconstituants
atmosphériques | 113 |
| CHAPITRE 2 : Etude bactériologique | 125 |
| CHAPITRE 3 : Analyse informatique | 175 |
| <u>TROISIEME PARTIE</u> : Résultats | 181 |
| <u>QUATRIEME PARTIE</u> : Discussion | 287 |
| <u>CONCLUSIONS GENERALES</u> | 313 |
| <u>RESUME</u> | 317 |
| <u>ANNEXE</u> | 319 |
| <u>BIBLIOGRAPHIE</u> | 325 |

